

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LA SCROFULE
FORME SPÉCIALE DE LA TUBERCULOSE
AVEC DES REMARQUES
SUR L'IMMUNITÉ ANTITUBERCULEUSE (1)

par A.-B. MARFAN.

A l'heure présente, pour beaucoup de médecins, le mot « scrofule » n'évoque aucune idée précise. Autrefois très employé, il a en effet presque disparu de la langue médicale. On ne le trouve plus dans la plupart des traités et manuels destinés à l'instruction des médecins.

Cette suppression est-elle justifiée ? Je ne le pense pas. Si les manifestations autrefois rattachées à la scrofule doivent être aujourd'hui interprétées autrement qu'il y a trois quarts de siècle, il n'en est pas moins vrai qu'elles ont entre elles des rapports qui obligent à les considérer comme faisant partie d'un même état morbide et comme dérivant d'une même cause.

(1) Les idées exposées dans cette étude l'ont été déjà, mais avec moins de développements, dans diverses publications, notamment dans une conférence faite à la clinique de M. Sergent, à l'hôpital Broussais-Charité, le 24 novembre 1933. Certains travaux récents prouvent que, sur quelques points, notre pensée n'a pas été bien comprise ; il nous a paru utile de la préciser encore. D'autres recherches, sans changer notre interprétation des faits cliniques, nous ont conduit à envisager quelques parties de cette question sous un aspect nouveau. Tout cela justifie, nous a-t-il semblé, une mise au point de la question. C'est l'objet de ce mémoire.

C'est ce que je me suis déjà efforcé de montrer et ce que je voudrais encore mettre en lumière.

Je rappellerai d'abord comment on concevait autrefois la scrofule. Puis j'exposerai le travail d'analyse et de critique à la suite duquel on a proposé de la supprimer. Je montrerai enfin que les découvertes récentes conduisent à en restaurer la notion.

I. — ANCIENNE CONCEPTION DE LA SCROFULE.

Il y a environ trois quarts de siècle, la scrofule était considérée comme une diathèse. A cette époque, la doctrine des diathèses était une des grandes notions dominantes. On appelait « diathèse » une disposition générale de l'organisme de laquelle dépendent certaines affections sans lien apparent, mais dont les rapports sont démontrés par leur association ou leur succession habituelle chez un même sujet ou chez des sujets d'une même famille. De cette coexistence ou de cette succession, on avait conclu qu'elles sont dues à un même principe morbifique, principe de nature inconnue, mais présent dans l'organisme du diathésique.

Cette conception, dont on retrouve l'origine dans Hippocrate, fut acceptée par l'Ecole de Montpellier. Vers 1860, elle fut développée et systématisée par Bazin, médecin de l'hôpital Saint-Louis, dont les idées dominèrent, en France, la pathologie générale jusqu'à l'avènement de la microbie. On admettait alors quatre principales espèces de diathèses : la scrofule, l'arthritisme, l'herpétilisme et la syphilis, celle-ci se distinguant par la contagiosité de certaines de ses manifestations.

La scrofule, disait-on, s'observe surtout chez les enfants et elle comprend trois groupes d'affections : 1^o des affections de la peau et des muqueuses, à caractères spéciaux : les « scrofulides » ; 2^o des adénites chroniques à tendance suppurative, particulièrement cervicales, qu'on appelait « écrouelles » ou « humeurs froides » ; 3^o des caries osseuses et des arthrites foncées. Ces affections peuvent être isolées, mais elles s'associent ou se succèdent souvent chez un même sujet.

1^o Les affections de la peau et des muqueuses qu'on rattachait à la scrofule, les *scrofulides*, sont polymorphes.

Parmi les scrofulides cutanées, certaines se rencontrent surtout chez les enfants du premier âge ; d'autres s'observent de préférence chez des sujets appartenant à la grande enfance ou à l'adolescence.

Chez les jeunes *enfants*, avant quatre ou cinq ans, on observe surtout l'impétigo, l'echyma scrofuleux et les gommes scrofuleuses.

L'*impétigo* et l'*echyma scrofuleux* sont des inflammations papulo-ulcérées ou pustulo-croûteuses qui, au début, ressemblent à l'impétigo et à l'echyma communs, mais s'en distinguent ensuite par leur tendance à l'ulcération ; par la lenteur de la guérison, après laquelle il reste une cicatrice longtemps visible ; par la fréquence des récidives ; enfin par leur coexistence avec d'autres manifestations scrofuleuses. Autour de ces altérations se produisent souvent des placards peu étendus de dermite eczématoïde.

Les scrofulides des jeunes enfants comprennent aussi l'*abcès froid sous-cutané* ou *gomme scrofuleuse*, qui se fistulise presque toujours et suppure longtemps ; c'est le *scrofuloderme* de certains auteurs étrangers ; il peut se développer partout, mais il siège avec préférence à la région fessière, à la face postérieure de la cuisse et de la jambe.

Chez les enfants plus grands, après six ou sept ans, et chez les adolescents, les scrofulides qu'on observe plus spécialement sont le *lichen scrofulosorum* (scrofulide boutonneuse de Bazin) et le *lupus commun* ; celui-ci était considéré comme la scrofulide la plus maligne, en raison de sa ténacité et de son caractère mutilant.

Bazin regardait aussi les *engelures* comme des scrofulides.

Les scrofulides des muqueuses sont la rhinite dite scrofuleuse et la kératite phlycténulaire.

La *rhinite scrofuleuse* est ordinairement limitée au vestibule du nez. Elle détermine à l'intérieur des narines de la rougeur, du suintement séro-purulent, des érosions plus ou moins profondes, qui laissent parfois des cicatrices sur le bord libre des ailes du nez, et enfin des croûtes jaunâtres qui deviennent noirâtres quand elles sont mélangées de sang et qui obstruent plus ou moins les narines. C'est une *rhinite vestibulaire ulcéro-croûteuse*. Lorsqu'elle dure longtemps, elle

détermine du gonflement de l'extrémité du nez ; elle provoque une sorte d'œdème inflammatoire de la lèvre supérieure qui en détermine un épaississement plus ou moins marqué ; sur cette lèvre épaissie, on voit souvent des fissures médianes ou commissurales, parfois des ulcérations qui se recouvrent de croûtes et saignent facilement. Ce *gros nez* et cette *grosse lèvre* contribuent à produire ce qu'on appelait le *facies scrofuleux*.

La rhinite des scrofuleux n'est pas toujours limitée à la région antérieure des fosses nasales. Dans certains cas, il est visible que l'écoulement nasal provient aussi des parties profondes.

Sur l'œil, la scrofule détermine la *kératite* dite *phlycténulaire*, bien qu'elle ne débute pas par une phlycténule. Elle est caractérisée par le développement sur la cornée, de préférence sur son limbe, mais aussi sur son centre, de petites papules nodulaires, d'abord presque transparentes, puis grisâtres (*pseudo-vésicules*) et qui s'ulcèrent très vite, déterminant une perte de substance cupuliforme. Cette papule ulcérée provoque une vive réaction inflammatoire ; autour d'elle les vaisseaux de la conjonctive se dilatent ; l'œil se recouvre d'une sécrétion muco-purulente et le patient éprouve une photophobie qui l'oblige à clore ses paupières. Quand l'ulcération est superficielle, elle guérit assez vite, en deux ou trois semaines ; quand elle est plus profonde, elle se cicatrice plus lentement et laisse après elle une taie longtemps visible, parfois indélébile. Il est heureusement exceptionnel qu'elle aboutisse à la perforation de la cornée avec toutes ses conséquences. Cette kératite récidive fréquemment (2).

La rhinite et la kératite scrofuleuses s'observent surtout chez les jeunes enfants, avant quatre ou cinq ans.

La scrofule peut déterminer aussi une *blépharite ulcéro-croûteuse* qui est très tenace et aboutit parfois à la perte définitive des cils.

Comme les scrofulides de la peau, ces manifestations de la

(2) Bien que la lésion essentielle de cette kératite soit une papule érosive ou ulcéruse et qu'elle ne soit pas précédée d'une phlyctène, pour me conformer à l'usage et pour éviter toute confusion, je continuerai à l'appeler kératite phlycténulaire. Le mieux serait de l'appeler *kératite scrofuleuse*.

scrofule sur le nez et sur les yeux ont comme caractères la tendance à l'ulcération, la lenteur de la guérison, la disposition à laisser des cicatrices visibles, la fréquence des récidives.

Enfin, on faisait rentrer dans la scrofule les *otorrhées chroniques* et les *bronchites à rechutes*. Plus tard, on a voulu introduire dans la scrofule l'hypertrophie des amygdales et les végétations adénoïdes ; mais l'observation clinique montre que ces affections ne font pas essentiellement partie de la scrofule comme on la concevait autrefois. Elles peuvent coexister avec des manifestations scrofuleuses, mais elles en sont indépendantes (3).

2° LES ADÉNOPATHIES SCROFULEUSES (4) étaient considérées comme la manifestation la plus caractéristique de la diathèse. Elles débutent le plus souvent après sept ou huit ans et évoluent ensuite lentement, pouvant durer des années. Elles siègent surtout dans la région du cou ; elles se développent dans les ganglions sous-angulo-maxillaires, dans ceux de la chaîne du muscle sterno-mastoïdien et dans ceux de la région sous-mentonnière ; parfois elles atteignent les ganglions de la région massétérine ou préauriculaire ; elles sont plus rares et n'atteignent pas le même degré dans la région cervicale postérieure. Les ganglions atteints sont gros et durs ; leur volume varie de celui d'une noisette à celui d'un œuf de pigeon. Ils sont parfois disséminés et séparés ; mais, le plus souvent, ils se touchent et forment des amas ou des chaînes qui descendent le long du muscle sterno-mastoïdien. Presque toujours l'adénopathie est bilatérale ; mais elle prédomine en général d'un côté. Ces ganglions sont d'abord mobiles, indolores et n'adhèrent ni les uns aux autres, ni à la peau. Ils peuvent demeurer tels durant des mois et des années ; ils peu-

(3) Voir MARFAN. Etude sur les végétations adénoïdes des nourrissons et plus particulièrement sur leurs causes. *Le Nourrisson*, mars 1917, p. 65.

(4) Le mot *scrofule* vient du mot latin *scrofa*, qui signifie « truie ». Son origine se trouve soit dans la fréquence des adénopathies chez les porcs, soit dans la forme du cou de ces animaux qui ressemble à celle des enfants porteurs de grosses adénopathies cervicales. De *scrofa* vient *scrofella* (bas-latin) ; de celui-ci sont venus *scrofule* et *écruelles* (Voir FLUTRE, *Æsculape*, septembre 1935). Le mot *strume* est employé parfois comme synonyme de scrofule.

vent disparaître ensuite et ne laisser à leur place que de petits noyaux durs. Mais ils ont une assez grande tendance à suppurer ; après un temps plus ou moins long, des ganglions s'agglomèrent et tendent à se confondre ; ils deviennent adhérents à la peau ; celle-ci brunit, rougit, s'amincit, devient douloreuse au toucher ; puis elle s'ouvre ; il s'écoule un pus séro-caséux ; une fistule ou plusieurs fistules s'établissent qui peuvent persister des mois et des années, qui peuvent aussi se fermer et se rouvrir pendant un temps indéfini. Ces fistules deviennent parfois le point de départ d'ulcérations de la peau plus ou moins étendues. La guérison est habituelle ; mais elle est toujours très lente. Les fistules et les ulcérations laissent après elles des cicatrices caractéristiques ; elles sont irrégulières, sillonnées de brides et de cordons. Ce sont ces adénites chroniques suppurées du cou qu'on appelle des « écruelles » ou « humeurs froides ».

On peut observer des adénopathies semblables dans d'autres régions, à l'aisselle, à l'aine ; mais elles y sont beaucoup plus rares (5).

3^e Le troisième groupe des manifestations scrofuleuses comprenait des **AFFECTIONS CHRONIQUES DE L'APPAREIL LOCOMOTEUR** : des ostéites chroniques à tendance suppurative qu'on désignait sous le nom de *carie scrofuleuse des os* et des arthrites chroniques qu'on appelait *arthrites fongueuses* ou *tumeurs blanches*.

Parmi les ostéites chroniques à tendance suppurative, certaines sont ordinairement précoces, d'autres plus souvent tardives. Apparaissent généralement tôt, avant trois ou quatre ans, la carie des os des mains et des doigts qui revêtent la forme de *spina ventosa*, la carie de l'os malaire, du cubitus, du calcanéum. Chez le jeune enfant, il n'est pas rare d'observer plusieurs de ces foyers de carie osseuse. La carie des corps vertébraux qui détermine le mal de Pott est un peu plus tardive ; son maximum de fréquence se place vers quatre ou cinq ans. Les grands os longs des membres, les côtes et

(5) La monoadénite chronique caséifiante non suppurée, qu'on désigne parfois sous le nom de « lymphome tuberculeux », ne fait pas partie de la scrofule. Elle s'observe rarement chez l'enfant ; elle atteint surtout l'adolescent et l'adulte.

le sternum sont atteints plus tard, après sept ou huit ans.

Les arthrites fongueuses peuvent s'observer à toutes les périodes de l'enfance et de l'adolescence. Mais elles se développent surtout après six ou sept ans.

Il faut remarquer que chez les grands enfants, à l'inverse de ce qui se passe avant trois ou quatre ans, les foyers osseux ou articulaires de la scrofule sont le plus souvent isolés ; une tumeur blanche du genou ou du poignet ou une coxalgie en est l'unique manifestation appréciable.

C'est une règle générale que les foyers scrofuleux sont d'autant plus nombreux que l'enfant est plus jeune. Dans le premier âge, on voit associés, par exemple, une kératite phlycténulaire, des scrofulides pustulo-croûteuses et des *spina ventosa* sur plusieurs phalanges. Chez les grands enfants, il n'y a souvent qu'un foyer scrofuleux apparent : écrouelles ou tumeur blanche par exemple. A mesure que l'âge avance, la scrofule, de multilésionnelle qu'elle était d'abord, tend à devenir unilésionnelle. Il faut toutefois reconnaître que cette règle comporte nombre d'exceptions.

Enfin, on disait que le scrofuleux a un *habitus particulier*. Sa peau est blanche, assez fine, elle a parfois une apparence de fraîcheur. Ses formes sont arrondies ; il ne paraît pas amaigri ; toutefois, quand on l'examine de près, il donne souvent l'impression d'une bouffissure anormale plutôt que d'un embonpoint de bon aloi. Mais ce que l'on considérait comme le plus caractéristique, c'était la modification du facies déterminée par les scrofulides de la face : œil rouge, larmoyant, à demi fermé ; nez gros, bouché par des croûtes ; lèvre supérieure épaisse. Ce facies et les adénopathies du cou donnent parfois au scrofuleux un aspect vraiment très spécial ; mais il manque bien souvent.

Ainsi que nous l'avons indiqué, chacune des manifestations de la scrofule a une certaine prédisposition pour telle ou telle période de l'enfance. Bazin se fondait sur cette notion pour diviser l'évolution de la scrofule en périodes, comme on le fait pour la syphilis ; il lui en attribuait quatre : primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire. Les limites et les caractères qu'il assignait à chacune de ces phases sont en vérité fort confus (6). Ce qu'il faut toutefois retenir, c'est que certaines

(6) BAZIN (E.). *Leçons théoriques et cliniques sur la scrofule considérée en elle-même et dans ses rapports avec la syphilis, la dartre et l'arthritis*, 2^e édition, Paris, 1861.

affections scrofuleuses sont le plus souvent précoces, d'autres en général tardives.

Les *précoces* s'observent surtout entre un an et cinq ans : ce sont les scrofulides pustulo-ulcérées (impétigo et ecthyma scrofuleux), les gommes sous-cutanées, la kératite phlycténulaire, la rhinite vestibulaire, le *spina ventosa*, la carie de l'os malaire et celle du calcanéum.

Les affections scrofuleuses *tardives*, s'observent surtout après six ou sept ans. Ce sont les écrouelles, le lupus commun, le *lichen scrofulosorum*, les engelures, la carie des grands os, les arthrites fongueuses.

Le mal de Pott ou carie vertébrale se place entre les deux groupes.

Il importe de remarquer que ces groupements n'ont rien d'absolu. Chacune des diverses manifestations de la scrofule peut s'observer à toutes les périodes de l'enfance, depuis les premières semaines jusqu'à l'adolescence. C'est un point sur lequel on reviendra.

A mesure que l'âge avance, les manifestations de la scrofule deviennent de plus en plus rares. Mais, ayant commencé pendant l'enfance, elles peuvent poursuivre leur évolution pendant l'adolescence et jusqu'à l'âge adulte. Quand elles se prolongent ainsi, la scrofule crée une prédisposition à la phthisie pulmonaire ; mais cette *phthisie des scrofuleux* évolue très lentement ; elle suscite peu de réactions ; elle est torpide ; pour Bazin, elle représentait la *période quaternaire de la scrofule*.

Voilà comment, entre 1850 et 1880, on concevait la scrofule.

Vers 1880, cette conception commença à être critiquée ; et, de critique en critique, on en arriva à demander que la scrofule fût supprimée dans la nosologie. Comment s'est produite cette évolution, c'est ce qu'il faut examiner maintenant.

II. — CRITIQUE DE L'ANCIENNE CONCEPTION DE LA SCROFULE.

Je dois rappeler d'abord que, depuis longtemps, certains médecins soutenaient qu'il existe des rapports étroits entre la scrofule et la tuberculose. Mais ils n'avaient pu définir la nature de ces rapports et préciser les limites de la scrofule

d'une part et de la tuberculose d'autre part. Si on veut s'assurer de la confusion qui régnait dans leur esprit, qu'on lise le chapitre consacré à cette question dans le *Traité clinique et pratique des maladies des enfants*, de Barthez et Rilliet (7). Ces auteurs, presque toujours très clairs, ont écrit à ce propos des pages qui manquent vraiment de netteté.

Cependant dans la période qui suivit la publication de leur ouvrage, il se produisit quelques affirmations précises sur des points limités. C'est ainsi que Nélaton soutint que la carie osseuse des scrofuleux est une ostéite tuberculeuse et que les arthrites fongueuses sont des arthrites tuberculeuses. Cette manière de voir fut adoptée et défendue plus tard par Lannelongue. De même, dans les extirpations chirurgicales et dans les autopsies, on avait vu dans les ganglions scrofuleux des amas de matière caséeuse ou des tubercules disséminés et certains s'étaient demandé si les écrouelles n'étaient pas des adénites tuberculeuses.

Mais un doute restait dans l'esprit des médecins. Il ne fut supprimé que par l'application à l'étude de la scrofule de deux grandes découvertes : celle de Villemin qui, en 1866, démontre l'inoculabilité des tissus tuberculeux ; celle de Robert Koch qui, en 1882, découvrit le bacille qui donne sa virulence à ces tissus. Ces découvertes apportèrent des moyens sûrs de reconnaître la tuberculose et les altérations qu'elle détermine. Elles permirent d'aborder utilement le problème des rapports de la scrofule et de la tuberculose.

Après 1882, R. Koch et divers auteurs avec lui, recherchèrent le bacille de la tuberculose dans le tissu des adénites cervicales dites scrofuleuses et inoculèrent aux animaux des fragments de ce tissu. Le résultat de ces recherches fut positif. Dès lors on n'hésita plus. On fit passer les écrouelles du domaine de la scrofule dans celui de la tuberculose. Toutefois, il importe de relever ici un fait important. Quand on procède à la recherche du bacille dans le pus des adénites scrofuleuses, on l'y trouve rarement ; si l'on pratique cette recherche sur le tissu même du ganglion, il faut le plus souvent examiner un grand nombre de coupes pour le mettre en évidence. Lors-

(7) 2^e édition, 3, 1854, p. 314.

qu'on inocule au cobaye le tissu ou le pus de ces ganglions, il faut en injecter d'assez grandes quantités pour obtenir un résultat positif, et la tuberculose des animaux inoculés a fréquemment une marche très lente ; si l'inoculation est faite au lapin, souvent elle ne donne aucun résultat. Arloing (de Lyon) en avait conclu que les écrouelles sont bien des adénites tuberculeuses, mais qu'elles sont dues à une *tuberculose atténuée*. Il faut retenir cette expression. Il est vrai que Nocard ne l'accepta pas ; pour lui, si l'inoculation du pus des écrouelles ne détermine qu'une tuberculose à marche très lente, cela tient non pas à ce qu'il renferme des bacilles atténués, mais à ce qu'il n'en contient que très peu ; tuberculose à bacilles rares, disait-il, ne signifie pas tuberculose atténuée. Mais cette discussion ne modifiait pas le résultat de ces recherches ; il restait démontré que les écrouelles sont des adénites tuberculeuses.

Les caries osseuses et les arthrites fongueuses furent étudiées par le même procédé que les adénites scrofuleuses ; le résultat fut identique ; il confirma les vues de Nélaton. On avait déjà enlevé à la scrofule son stigmate le plus caractéristique : les adénites chroniques suppurées du cou. Les caries osseuses et les arthrites fongueuses lui échappaient à leur tour et passaient aussi dans le domaine de la tuberculose.

Et ce n'était pas fini. Les gommes scrofuleuses rentrèrent dans la tuberculose après des recherches identiques à celles qui avaient été faites sur les adénites du cou. Le lupus commun fut considéré, à la suite d'investigations analogues, comme forme spéciale de tuberculose de la peau.

Mais, ici encore, il importe de remarquer que, dans toutes ces affections, de même que dans les écrouelles, la recherche des bacilles est laborieuse ; il faut examiner un grand nombre de coupes pour en rencontrer quelques-uns et on doit injecter aux animaux une assez grande quantité de tissu malade pour les tuberculiser.

Enfin, le travail de démembrément continuant, en 1896, M. Darier plaça le lichen scrofulosorum dans le groupe des « tuberculides » qu'il venait de créer. Quant à la bronchite à réchutes, elle fut mise en relation avec la tuberculose des ganglions bronchiques, qui existe toujours ou à peu près

toujours chez les scrofuleux. Et pour l'otorrhée chronique, celle qu'on peut à bon droit rattacher à la scrofule, c'est-à-dire celle qui est indépendante des végétations adénoïdes, elle fut attribuée à une carie du rocher, c'est-à-dire à une ostéite tuberculeuse de l'os temporal.

Que restait-il alors de l'ancienne scrofule ? Il n'en restait que ces inflammations à tendance ulcéreuse, tenaces, récidivantes, de la peau et des muqueuses ; l'impétigo et l'ecthyma scrofuleux, la rhinite vestibulaire ulcéro-croûteuse, la kératite phlycténulaire. Allait-on les faire rentrer, elles aussi, dans la tuberculose ? On l'essaya : on chercha le bacille dans leurs sécrétions et sur leur tissu recueilli par biopsie ; on inocula sécrétions et tissus ; les résultats furent négatifs. Comme on trouvait toujours dans ces lésions des microbes pyogènes, du staphylocoque et du streptocoque, on n'hésita pas à les faire rentrer dans les pyodermites. L'impétigo et l'ecthyma scrofuleux, déclara-t-on, ne doivent pas être distingués de l'impétigo et de l'ecthyma communs ; comme ceux-ci, ils sont dus à l'action du staphylocoque et du streptocoque. La kératite phlycténulaire ne représente autre chose qu'un impétigo de la conjonctive et la rhinite scrofuleuse est une rhinite impétigineuse.

A ce moment, vers l'an 1900, pour la plupart des médecins, de l'ancienne scrofule il ne restait plus rien ; une partie avait passé dans la tuberculose, l'autre dans les pyodermites. Quant à la fréquente coexistence des lésions qui constituaient cette diathèse, on se bornait à dire que, sans doute, dans nombre de cas, les inflammations ulcéreuses de la peau et des muqueuses de la face servent de porte d'entrée au bacille de la tuberculose qui envahit les ganglions du cou.

III. — LA SCROFULE, FORME SPÉCIALE DE TUBERCULOSE.

Mais les faits restent les faits. On peut les méconnaître un certain temps. Un jour vient où ils s'imposent de nouveau. L'observation avait montré aux anciens médecins que certaines affections de l'enfance s'associent entre elles fréquemment, présentent des caractères qui les rapprochent, et on les avait considérées comme appartenant à un même groupe : on les

appelait des affections scrofuleuses. Etait-ce un tort de les avoir réunies et rapportées à une même cause ? C'est ce que je ne crois pas. Acceptant sans réserve les découvertes sur lesquelles on s'est fondé pour démembrer la scrofule, je n'ai pu m'empêcher de faire quelques remarques.

Il est bien vrai que les principales manifestations de l'ancienne scrofule, les adénites cervicales chroniques, les caries osseuses et les tumeurs blanches, les gommes scrofuleuses, le lupus vulgaire sont des affections tuberculeuses survenant dans l'enfance. Mais on doit reconnaître que ce sont des *affections tuberculeuses très spéciales*. Parmi les caractères qui les distinguent on doit noter surtout que leur évolution est apyrétique, qu'elles sont compatibles avec un assez bon état général et qu'elles guérissent souvent sans que le malade ait présenté ou présente plus tard des signes de tuberculose évolutive, soit généralisée, soit pulmonaire.

Sans doute, tant qu'elles ne sont pas guéries, les affections scrofuleuses peuvent se compliquer d'une granulie, d'une méningite, d'une pleurésie, d'une péricardite bacillaires, voire d'une tuberculose évolutive des poumons. Cependant ces complications ne sont pas fréquentes. Elles sont même très rares lorsque la scrofulo-tuberculose se développe dans les premières années de la vie. Elles sont tout à fait exceptionnelles quand l'affection scrofule-tuberculeuse a guéri avant l'âge de quinze ans. C'est un point sur lequel il faut insister ici.

Il y a déjà longtemps, j'ai avancé que la guérison des écrouelles, lorsqu'elle survient avant quinze ans, confère une sorte d'immunité pour la tuberculose pulmonaire (8). Je fonde cette assertion sur les preuves suivantes. Si on examine des adultes porteurs de cicatrices d'écrouelles, parmi ceux dont les adénites ont complètement guéri avant l'âge de quinze ans, on n'en trouve presque aucun qui soit atteint d'une tuberculose pulmonaire évolutive (guère plus de 1 sur 100). D'autre part, si on examine des sujets atteints de phthisie pulmonaire en activité, on en trouve fort peu qui présentent des cicatrices

(8) Arch. gén. de méd., mars et avril 1886 ; *Traité de médecine de Charcot, Bouchard et Brissaud*, 1^{re} édition, 4, 1892, p. 606 ; 2^e édition, 7, 1900, p. 166 ; *Clinique des mal. de la première enfance*, 2^e édition, 1931, p. 440.

d'écrouelles complètement guéries avant l'âge de quinze ans (à peine 1 sur 100). Ce qui est vrai pour les écrouelles l'est aussi pour les autres affections scrofuleuses qui ont guéri avant quinze ans, à un degré un peu moindre toutefois. Aussi ai-je pu dire que la tuberculose ganglionnaire est la forme la plus immunisante des tuberculoses évolutives, ce que certaines expériences semblent avoir confirmé (9). Ces faits furent d'abord niés (10). Plus tard on reconnut leur exactitude et après maintes discussions, il fut généralement admis qu'ils sont en rapport avec une forme de l'immunité antituberculeuse.

Il faut rappeler ici comment ces discussions ont conduit à concevoir l'état de résistance à la tuberculose.

Lors de mes premières publications, j'acceptais une hypothèse que les recherches ultérieures devaient me faire abandonner. Je pensais que la guérison locale d'une affection scrofuleuse signifiait guérison générale, complète, de la tuberculose et que l'immunité résultait de cette guérison. Nous avons appris depuis, mais il n'y a pas si longtemps, que *l'immunité pour les maladies aiguës est tout à fait différente de la résistance aux maladies chroniques*; la première est la conséquence de la guérison; la seconde est fonction d'infection; pour la tuberculose comme pour la syphilis, la guérison complète fait perdre l'état réfractaire. Il semble que, pour entretenir les processus qui produisent l'état de résistance à ces infections chroniques, la présence de quelques germes dans l'organisme soit nécessaire (11). D'ailleurs on ne saurait parler de guérison complète quand il s'agit de la tuberculose de l'homme, puisque, lorsque le bacille a pénétré dans son orga-

(9) MARFAN, WEILL-HALLÉ (B.) et LEMAIRE (H.). Action *in vitro* des extraits de ganglions lymphatiques et de divers organes normaux sur le bacille de la tuberculose. *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, 15 juillet 1913, p. 836. SPIRO-LIVIERATO. *Ann. de Médecine*, 42, no 2, août 1922.

(10) Voir notre *Clinique des mal. de la première enfance*, 2^e édition, 1931, p. 441.

(11) L'extirpation totale des ganglions du cou atteints de tuberculose ne doit être décidée qu'après qu'on en a bien pesé les avantages et les inconvénients. Après cette extirpation, on observe parfois, surtout chez les jeunes enfants, une déchéance de l'état général et une généralisation de la tuberculose. Les choses se passent comme si on avait supprimé un foyer de protection.

nisme et déterminé une lésion, même minime, l'homme ne s'en libère jamais (12).

On sait aujourd'hui, particulièrement par la cuti-réaction à la tuberculine, que le plus grand nombre des adultes vivant dans les grands centres civilisés, sont porteurs de lésions bactériennes (environ 90 p. 100 à partir de vingt-cinq ans) ; et puisque, sur ces 90 porteurs de bacilles, il n'y en a guère plus d'une dizaine qui soient destinés à mourir de tuberculose, c'est qu'il y en a environ 80 dont les lésions sont au repos, n'évoluent pas et qu'on peut considérer comme ayant acquis un degré assez élevé de résistance.

On a avancé que cette résistance ne devait pas être considérée comme le résultat d'une véritable immunité et, pour la distinguer, Edmond Sergent, Parrot et Donatien (d'Alger) ont proposé de la désigner par le mot « prémunition ». « Immunité » ne s'appliquerait qu'à l'état réfractaire produit par une première atteinte de maladie infectieuse aiguë ; « prémunition » désignerait la résistance à la réinfection des sujets frappés par une infection chronique. Sans méconnaître la valeur des raisons qui justifient cette nomenclature, nous croyons qu'il est permis de se servir du mot « immunité » pour désigner l'état de résistance à la tuberculose ; il suffit de l'entendre dans son sens le plus large. Le mot a pour lui d'être compris de tout le monde.

Les recherches poursuivies depuis plus d'un quart de siècle ont montré quelques-uns des caractères de l'immunité anti-

(12) Toutefois, sur ce point, certains travaux récents ne permettent pas d'être trop absolu, particulièrement ceux dans lesquels on avance que, chez des sujets ayant présenté une cuti-réaction ou même une intradermo-réaction positive, ces réactions peuvent, par la suite, devenir définitivement (?) négatives. On rappelle, à ce propos, que des faits de ce genre ont été observés par Calmette et Guérin, chez de jeunes bovidés, dix-huit mois après une infection peu virulente. Dans l'espèce humaine, ils doivent être fort rares car nous n'en avons jamais rencontrés. Si leur existence est confirmée, il faudra rechercher si ce changement de réaction est définitif et en relation avec une guérison totale de la tuberculose, c'est-à-dire avec une élimination complète de tous les bacilles qu'hébergeait l'organisme. Les conclusions de ces recherches auraient une haute signification. Voir là-dessus : GUÉRIN. *C. R. Acad. de Méd.*, 20 juillet 1937, p. 78 ; CHAUSSINAND. Ces *Annales*, avril 1938, p. 432 ; AMEUILLE, SAENZ et CANETTI. *Soc. méd. des hôp.*, 8 avril 1938, p. 633.

tuberculeuse (13). C'est un état de résistance qui n'a rien d'absolu. Très variable dans son degré et sa durée, il peut toujours être vaincu par une inoculation massive. Les faits que j'ai signalés prouvent que la résistance des sujets qui ont guéri avant quinze ans d'une affection scrofuleuse est une des formes les moins fragiles de cette immunité.

Aux règles que j'ai énoncées, on a opposé le cas de phthisiques pulmonaires adultes atteints en même temps de lupus, de tuberculoses ganglionnaires, osseuses ou articulaires en activité. Nous répétons que, parmi ces localisations, seules immunisent celles qui guérissent avant quinze ans. Celles qui sont en évolution chez des adultes, qu'elles aient débuté dans l'enfance ou plus tard, sont d'un autre ordre ; elles n'ont pas de pouvoir immunisant ou ne l'ont qu'à un faible degré.

On présente aussi quelquefois comme des exemples de dérogations à ces règles des adultes atteints de tuberculose pulmonaire en évolution et porteurs de cicatrices d'écruelles, en apparence guéries. Presque toujours la guérison n'est qu'apparente ; il suffit d'examiner ces cicatrices pour y découvrir, sous une croûte, une ulcération ou un petit orifice fistuleux, pour y voir quelques nodules d'infiltration lupique et pour s'assurer qu'au-dessous d'elles, il existe des noyaux ganglionnaires plus ou moins durs et d'un volume appréciable. Ces écruelles n'étaient donc pas guéries (14).

Un des avantages des écruelles comme sujet d'études, c'est qu'on a la lésion sous les yeux et sous les doigts ; il est plus facile de s'assurer de leur guérison que de celle d'une tuberculose osseuse ou articulaire, même lorsque celle-ci est soumise à un contrôle radiologique.

(13) Sur les questions concernant l'immunité antituberculeuse, voir : PARAF (J.). *L'immunité au cours de la tuberculose. Etude expérimentale et clinique*, Masson éditeur, Paris, 1936.

(14) Sur cette question des coïncidences des tuberculoses pulmonaires et des tuberculoses externes chez l'adulte, voir : RENAUD (Maurice). Avec quelle fréquence la tuberculose pulmonaire s'associe-t-elle aux tuberculoses dites locales ? *Soc. méd. des hôp.*, 10 février 1933 ; BERNARD (Et.). Tuberculose pulmonaire de l'adulte associée à des foyers extra-pulmonaires multiples. *Paris Méd.*, 5 janvier 1935. BERNARD (Et.), DREYFUS-SÉE (G.), et HERRENSCHMIDT. Evolution des tuberculoses pulmonaire et extra-pulmonaire associées chez l'adulte. *Revue de la tuberculose*, décembre 1936, p. 1215. BERNARD (Et.), THIEFFRY (S.) et LESOBRE (R.). Tuberculoses pulmonaire et extra-pulmonaire associées chez l'adulte. *Ibid.*, p. 1224. BOTRELLOIS Pierre et LEBEL Marc. Aspects cliniques et modes évolutifs des tuberculoses mixtes ostéo-articulaires et pulmonaires associées. *Soc. méd. des hôp.*, 4 décembre 1936, p. 1638. MARFAN. Sur les tuberculoses mixtes. *Ibid.*, 8 janvier 1937, p. 33. BERNARD (Et.), GROSSIORD et VILDE. Contribution à l'étude clinique de la tuberculose cervico-pulmonaire homolatérale. *Ibid.*, 26 février 1937, p. 316.

Les lésions tuberculeuses qu'on attribuait autrefois à la scrofule se distinguent donc *par leur bénignité relative et par leur pouvoir de conférer au sujet qui les porte un certain degré de résistance à la tuberculose.*

La découverte de la *cuti-réaction* a puissamment contribué à restaurer la notion de « scrofule ». Chez les scrofuleux en effet, non seulement la réaction de Pirquet est toujours *positive*, mais elle est encore *très intense*, d'autant plus intense que le sujet est plus jeune ; elle n'est pas seulement très intense, elle est aussi assez *spéciale*. Elle détermine la formation d'une papule très étendue, saillante, oedemateuse, souvent surmontée d'une vésicule ou d'une bulle, qui, en se desséchant, laisse une croûte au-dessous de laquelle la partie superficielle du derme est nécrosée.

Cette intensité de la cuti-réaction chez les scrofuleux a été mise en rapport avec le degré d'immunité dont ils jouissent. C'est ce qu'on ne saurait accepter sans de fortes réserves. Entre l'allergie et l'immunité antituberculeuse il y a certainement des relations ; mais elles sont encore obscures. Tout ce que nous en savons se résume en ceci. L'immunité antituberculeuse coïncide toujours avec l'allergie. Immunité et allergie apparaissent et disparaissent en même temps. Mais leur degré peut être très différent. Surtout l'allergie peut exister sans immunité. Nombre de sujets allergiques, et même fortement allergiques, n'ont aucun degré d'immunité et leur tuberculose évolue plus ou moins rapidement vers la mort. Allergie et immunité sont donc deux états distincts. Il est probable que l'allergie joue un rôle dans la défense de l'organisme ; mais ce rôle est mal défini ; en tout cas, il paraît faible. S'il est un des éléments qui concourent à produire l'état de résistance, il est certain qu'il y en a bien d'autres.

Pour en revenir aux faits, il importe de relever que la cuti-réaction est positive et très forte même chez les scrofuleux qui, ne présentant pas de ces manifestations qu'on rattache avec certitude à la tuberculose, sont seulement atteints de ces lésions de la peau et des muqueuses qu'on a rattachées aux pyodermites, c'est-à-dire d'impétigo et d'ecthyma à tendance nécro-

sante, de kératite phlycténulaire, de rhinite vestibulaire ulcéro-croûteuse.

L'*examen radiologique* apporte une confirmation et un complément aux données précédentes. Presque toujours, il montre dans le thorax des scrofuleux les images qui révèlent l'existence d'une tuberculose ganglio-pulmonnaire récente ou ancienne. S'il s'agit de sujets très jeunes, celle-ci peut présenter les caractères d'une lésion encore évolutive : ombres hilaires et périhilaires d'une étendue et d'une intensité manifestement anormales, siégeant surtout à droite ; parfois quelques taches dans les champs pulmonaires ; le plus souvent ces plages d'ombres sont assez uniformes, homogènes, avec peu de bigarrures. Quand il s'agit d'anciens scrofuleux, on observe en divers points de petits foyers calcifiés, très sombres et à limites nettes. Et ces images se rencontrent non seulement chez les scrofuleux qui présentent ces manifestations qu'on s'accorde à regarder comme sûrement tuberculeuses, mais aussi chez ceux qui ne présentent que des scrofulides de la peau et des muqueuses (15).

*
* *

Ces constatations montrent qu'il y a un *lien entre ces manifestations cutanéo-muqueuses et la tuberculose*. Sur la nature de ce lien deux opinions ont été soutenues.

Dans la première, on continue à attribuer ces altérations à des microbes pyogènes, à des staphylocoques ou à des streptocoques. On reconnaît que les scrofulides ne se produisent que chez des tuberculeux ; mais on avance qu'elles n'en sont pas moins produites par ces microbes. Si elles se distinguent des pyodermes communes par quelques caractères, c'est que, chez ces tuberculeux qu'on qualifiait autrefois de scrofuleux, la peau et les muqueuses ont un pouvoir de réaction très exagéré et très particulier, comme en témoignent l'intensité et les caractères de la cuti-réaction ; il en résulte que les pyo-

(15) Récemment, un auteur étranger a avancé que nous avions voulu établir une sorte d'antagonisme absolu entre les tuberculoses « externes » et les tuberculoses « internes ». Ce qui précède suffit à montrer qu'il ne nous a pas compris.

dermites revêtent chez eux des formes spéciales ; mais elles n'en restent pas moins des pyodermites (16).

On fonde cette manière de voir sur trois sortes d'arguments. On invoque d'abord certaines expériences qui auraient montré que des inoculations de cultures de staphylocoques sur la peau des scrofuleux détermineraient l'impétigo et l'ecthyma du type scrofuleux, et que des instillations de ces cultures sur leur conjonctive provoqueraient une kératite phlycténulaire (Rupert, Guillery). Mais ces expériences n'ont pas été reproduites et leur interprétation soulève nombre de difficultés.

Ensuite on invoque la présence du staphylocoque ou du sreptocoque, ou de ces deux microbes réunis, dans ces lésions cutanéo-muqueuses. C'est un argument fragile ; cette présence n'a de valeur que lorsqu'elle est constatée tout à fait au début de la lésion. Dans toutes les lésions suppuratives ou ulcérées de la peau, dès qu'elles ont une certaine durée, on peut trouver des microbes pyogènes ; mais ce sont très souvent des agents d'infection secondaire.

Enfin, on s'appuie sur ce que, dans ces scrofulides, on n'a pu mettre en évidence le bacille de la tuberculose, ni par l'examen microscopique du tissu prélevé par biopsie, ni par l'inoculation à l'animal de ce tissu. Mais cette objection n'a plus de valeur si l'on admet l'opinion que nous avons soutenue, à savoir que les *scrofulides cutanées et muqueuses sont des variétés de tuberculides*.

En 1896, M. Darier a proposé de réunir sous le nom de « tuberculides » des dermatoses disparates, mais dont les relations avec la tuberculose sont attestées par les caractères suivants : elles coexistent souvent avec des lésions manifestement tuberculeuses ; elles ont une structure folliculaire analogue à celle du tubercule. Mais, comme ni le microscope, ni l'inoculation à l'animal n'avaient pu démontrer dans ces lésions cutanées la présence de bacilles de Koch, M. Darier leur avait donné le nom de tuberculides, qui indique leurs relations avec la tuberculose, mais n'en précise pas la nature. Les trois principales tuberculides admises d'abord par M. Darier sont le *lichen scrofulosorum* (tuberculide lichénoïde),

(16) C'est à propos de ces faits qu'on a parlé d'*allergie non spécifique*.

des papules nécrotiques (tuberculides papulo-nécrotiques), des pustules nécrotiques (acné cachectique ou nécrosante, tuberculide acnéiforme). On y a joint plus tard le lupus pernio, le lupus érythémateux, les sarcoïdes et l'érythème induré de Bazin. M. Darier a aussi rangé les engelures communes parmi les tuberculides (17).

Pour expliquer la relation de ces lésions cutanées avec la tuberculose, on a émis diverses hypothèses.

Dans la première, formulée par M. Haury et M. Darier en 1899, on suppose que les tuberculides sont déterminées par des bacilles morts ; certains tuberculeux, avance-t-on, élaborent des anticorps qui tuent les bacilles sans les désintégrer ; ces cadavres de bacilles, chargés d'endotoxines et de tuberculine, sont charriés par le sang, s'arrêtent au niveau de la peau et y déterminent des lésions semblables à celles que détermine le bacille vivant, mais qui ne progressent pas et s'éteignent sur place.

D'autres auteurs, en particulier M. Iadassohn en 1913, ont soutenu une manière de voir analogue, mais en la modifiant un peu. Ils avancent que les tuberculides sont déterminées par l'arrivée de bacilles vivants dans le derme de sujets en état d'allergie intense. Les réactions qu'ils provoquent sont violentes et presque nécrotiques. Si l'inoculation du tissu prélevé à son niveau par biopsie ne donne pas de résultat, c'est que, pensait-il, le bacille amené vivant a été rapidement tué par la réaction allergique ; si ce tissu, disait-il, était inoculé dès l'apparition de la tuberculide, les résultats positifs seraient plus nombreux.

M. Ravaut et ses collaborateurs (18) ont attribué les tuberculides à l'action du virus tuberculeux filtrant. Mais les critiques adressées à la conception de l'ultra-virus ne permettent pas de retenir cette manière de voir.

Tel est l'état de nos connaissances sur les tuberculides.

Or, par toute une série de caractères, les scrofulides cuta-

(17) STEPHANI-CHERBULIEZ (Jeanne). Les engelures, forme atténuée de tuberculose. *Revue de la tuberculose*, mars 1936, p. 277.

(18) RAVAUT, VALTIS et DE BLASIO. *Soc. de dermat. et de syphiligr.*, 7 juillet 1932, p. 1257 (ce mémoire renferme la bibliographie des travaux antérieurs de M. Ravaut).

nées et muqueuses se rapprochent des tuberculides. Dans les deux sortes d'altérations, même tendance à l'ulcération et à la nécrose, même lenteur de la guérison, même disposition à laisser des cicatrices longtemps visibles, même tendance aux récidives, même coexistence fréquente avec des lésions manifestement tuberculeuses. Aussi est-il légitime de considérer les scrofulides comme des variétés de tuberculides auxquelles convient bien le nom de *scrofulo-tuberculides*. Toutefois, la démonstration formelle n'en a été fournie que pour la kératite papulo-ulcéruse dite phlycténulaire.

En 1908, au cours de mes premiers essais d'ophtalmoréaction à la tuberculine, j'avais été frappé de voir cette épreuve provoquer souvent de la kératite phlycténulaire récidivante (19). J'avais été ainsi conduit à regarder cette ophtalmie comme une tuberculide. Ce n'est que plusieurs années après, en 1921, que j'ai exprimé cette manière de voir (20). J'ignorais encore à ce moment que la kératite phlycténulaire avait été, en 1911, l'objet de recherches importantes de la part de M. L. Weekers, professeur d'ophtalmologie à l'Université de Liège. Lui aussi avait d'abord été frappé de la ressemblance de cette affection avec les lésions provoquées par l'ophtalmoréaction à la tuberculine ; et c'est à la suite de cette constatation qu'il entreprit la série des études cliniques, histologiques et expérimentales desquelles il put conclure que la kératite phlycténulaire est une tuberculide (21).

Cette manière de voir a été confirmée par les recherches de Nassau et Zweig (*Zeitschr. für Kinderheilk.*, 1925), de Ioukousky (*Le Nourrisson*, décembre 1929, p. 375), de R. Pierret, A. Breton et Loison (*Arch. de méd. des enf.*, juillet 1933, p. 393), de Dozoul (*Thèse de Bordeaux*, 1934).

(19) OPPERT. La cuti-réaction à la tuberculine. *Thèse de Paris*, 1908, p. 116 et suivantes.

(20) *Paris-Médical*, 1^{er} janvier 1921, p. 13.

(21) Dr L. WEEKERS. Recherches au sujet des phlyctènes oculaires. Etude clinique, anatomique et expérimentale établissant les analogies entre les phlyctènes oculaires et les tuberculides cutanées. *Mémoire présenté à la Faculté de médecine de l'Université de Liège, pour l'obtention du titre de docteur spécial en science ophtalmologique*. Bruxelles, 1911, chez Hayier. *Archives d'ophthal.*, juin-juillet 1921, p. 342 et 411. Voir aussi MARFAN. Scrofule et kératite phlycténulaire. *La Presse Médicale*, 1^{er} septembre 1928. WORINGER. Le sort des enfants ayant présenté une kérato-conjonctivite phlycténulaire. *Paris-Médical*, 7 novembre 1931.

Elles ont été acceptées par M. Woringer, mais avec quelques réserves, cet auteur ayant trouvé que sur 100 enfants atteints de kératite phlycténulaire, 15 n'ont pas réagi à la cuti-réaction, même répétée deux fois (*Paris-Médical*, 7 mai 1931).

Selon Rupert (*Klin. Monatsblätter*, 1912) et Guillery (*Münch. med. Woch.*, 1921), s'il est vrai que la kératite phlycténulaire ne s'observe que chez des tuberculeux, elle peut être provoquée par n'importe quelle cause d'irritation, par exemple par l'instillation sur la conjonctive d'une culture de staphylocoques. Nous avons déjà rapporté cette expérience et discuté sa valeur.

Pour Schieck, la kératite phlycténulaire a pour condition une sensibilité de la cornée d'ordre anaphylactique ; mais cette sensibilité peut être produite par des antigènes variés, non seulement par la tuberculose, mais aussi par la gonococcie par exemple (*Münch. med. Woch.*, 1^{er} janvier 1932).

Enfin, M. A. Sture Siwe pense que dans le plus grand nombre des cas, la kératite phlycténulaire est une manifestation de l'allergie tuberculeuse, mais que, cependant, elle peut avoir d'autres causes (*Acta tuberc. Scandinavica*, n° 4, 1935, p. 225).

Pour ma part, je n'ai pas encore rencontré un vrai cas de kératite phlycténulaire avec cuti-réaction négative. Si l'on a observé des exceptions à cette règle, j'incline à penser ou qu'il ne s'agissait pas de vraie kératite phlycténulaire, ou que les sujets étaient dans un état d'anergie transitoire.

Aussi ces travaux ne me paraissent pas devoir modifier notre conclusion, à savoir que la kératite phlycténulaire des jeunes enfants est une forme de tuberculide, une scrofule-tuberculide.

L'impétigo et l'ecthyma scrofuleux, la rhinite scrofuleuse, devront être étudiés à leur tour avec les méthodes employées par M. Weekers pour la kératite phlycténulaire. Après ces recherches, il est à présumer que les scrofulides cutanées et muqueuses apparaîtront comme des variétés de tuberculides et comme des manifestations particulières de cette forme spéciale de tuberculose à laquelle on doit, pour la distinguer, conserver ce nom de scrofule.

IV. — SYNTHÈSE DE LA SCROFULO-TUBERCULOSE.

Arrivé à ce point de notre étude, nous pouvons définir la scrofule et en indiquer les caractères essentiels. *C'est une forme spéciale de tuberculose qui s'observe surtout dans l'enfance.*

Elle se manifeste par trois principaux groupes d'affections : 1^o des affections de la peau et des muqueuses, les scrofulides ;

2° des adénites tuberculeuses à tendance suppurative, siégeant surtout au cou : les écrouelles ; 3° des ostéites et des arthrites tuberculeuses : les caries osseuses et les arthrites fongueuses ou tumeurs blanches.

I. En ce qui regarde leur *origine*, un fait nous éclaire : chez tous les scrofuleux (ou chez presque tous), l'examen radiologique montre dans le thorax des ombres hilaires, périhilaires, parahilaires, manifestement pathologiques, et qui révèlent l'existence d'une tuberculose ganglio-pulmonaire sans doute initiale (22). On en peut déduire que les manifestations scrofulo-tuberculeuses sont des localisations secondaires de ce foyer initial. Pour presque toutes, on ne saurait douter que le bacille de la tuberculose, parti de ces lésions ganglio-pulmonaires, a été transporté par le sang aux points où elles se sont développées ; c'est certainement le cas pour les ostéites et les arthrites tuberculeuses (23), pour les gommes sous-cutanées, les scrofulides de la peau et des muqueuses. Il n'est guère que deux affections scrofuleuses dont l'origine hématogène puisse être discutée : le lupus et les écrouelles.

Nombre d'auteurs admettent que le lupus commun est produit par une inoculation directe de la peau. On peut leur objecter que l'inoculation directe du bacille de la tuberculose dans le tégument externe produit, en général, des lésions différentes du lupus : une ulcération, dite chancre tuberculeux, accompagnée d'une adénopathie satellite considérable. A cette objection, certains répondent que le lupus résulte d'une inoculation cutanée chez un sujet déjà infecté, donc allergique, ce qui explique sa forme spéciale et l'absence d'adénopathie. Mais, en vérité, le lupus ne présente aucun des caractères d'un phénomène de Koch. On est donc conduit à admettre que, dans certains cas tout au moins, il a, comme les autres affections scrofuleuses, une origine hématogène. Le lupus à foyers multiples, apparaissant presque simultanément, ne peut être produit autrement.

(22) Le « complexe primaire » de certains auteurs.

(23) Les recherches expérimentales de A. Boquet et R. Laporte viennent d'apporter une nouvelle preuve de l'origine hématogène de la tuberculose ostéo-articulaire (*Revue de la tuberculose*, avril 1936, pp. 440 et 447).

Pour les écrouelles, l'opinion générale est qu'elles proviennent le plus souvent d'une infection bacillaire par la muqueuse des premières voies, particulièrement par celle qui recouvre les amygdales palatines et pharyngées, les bacilles qui pénètrent par cette voie muqueuse pouvant provenir soit de l'extérieur, soit des voies respiratoires profondes par l'expectoration. On ne saurait douter qu'elles n'aient parfois cette origine. Mais nous pensons que, dans nombre de cas, le bacille est apporté aux ganglions par la voie sanguine. La coexistence habituelle (6 fois sur 7) des écrouelles et d'un foyer ganglio-pulmonaire révélé par l'examen radiologique, foyer qui a sans doute précédé souvent l'adénite cervicale, la bilatéralité fréquente des écrouelles, l'existence, démontrée par l'expérimentation, d'adénites tuberculeuses, consécutives à une infection par voie sanguine, nous paraissent le prouver. Quant à l'opinion d'après laquelle les adénites tuberculeuses du cou peuvent provenir d'un foyer thoracique (ganglionnaire, pleural, apical), le bacille étant transporté dans les ganglions cervicaux par un courant lymphatique rétrograde, allant de bas en haut, elle est fort discutable.

Certains faits obligent à admettre que les adénites tuberculeuses du cou peuvent succéder à une primo-infection par la conjonctive oculaire. D'autres permettent de penser que les foyers de tuberculose intrathoracique peuvent parfois se développer en conséquence d'une infection provenant des écrouelles par propagation lymphatique descendante. Si l'on songe à la coexistence habituelle des écrouelles et des images radiologiques de primo-infection ganglio-pulmonaire, si l'on songe que cette coexistence est constatée presque toujours dès le début, on conclura que les cas de ce genre doivent être fort rares.

II. Chacune des diverses manifestations de la scrofule peut s'observer à toutes les périodes de l'enfance et de l'adolescence. Toutefois, nous l'avons déjà noté, chacune d'elles a une prédisposition pour telle ou telle de ces périodes. Rappelons qu'à ce point de vue, on peut les diviser en deux groupes, les *précoce*s et les *tardives*.

Les *précoce*s s'observent surtout entre six mois et cinq ou six ans. Elles comprennent les scrofulides pustulo-ulcéreuses (*impétigo* et *ecthyma scrofuleux*), les gommes sous-cutanées, la kératite phlycténulaire, la rhinite vestibulaire, le *spina ventosa*, la carie de l'os malaire et celle du calcanéum.

Les affections scrofuleuses *tardives* s'observent surtout après six ou sept ans. Ce groupe comprend les écrouelles, le lupus, le *lichen scrofulosorum*, les engelures, la carie des grands os, les arthrites fongueuses.

Le mal de Pott, ou carie vertébrale, se place entre les deux groupes.

Il faut répéter que ce groupement n'a rien d'absolu. Chacune des affections scrofuleuses peut s'observer à n'importe quel âge. Des accidents de groupes différents peuvent coexister sur un même sujet ; ceux du second groupe peuvent précéder les manifestations du premier. Enfin, les affections considérées comme appartenant à une période peuvent, en certains cas, faire toutes défaut.

Néanmoins, leur habituelle apparition à une certaine période conduit à regarder celles du premier groupe comme se produisant peu de temps après la contagion, celles du second apparaissant plus tardivement.

Les précocecs suivent sans doute la contagion d'assez près. Si l'on accepte le schéma de Ranke, elles font partie de la première phase de la période secondaire de l'évolution tuberculeuse. On a avancé qu'elles apparaissent entre le troisième et le sixième mois après la contamination. Les tardives ne surviennent au plus tôt qu'un an, souvent plusieurs années après (24) ; elles font partie de la seconde phase de la période secondaire de Ranke. Mais il ne faut pas regarder ces règles comme absolues. Elles comportent beaucoup d'exceptions. C'est ainsi que, d'après M. Woringer, si la kératite phlycténulaire se manifeste le plus souvent de trois à six mois après la contagion, elle peut se montrer huit à dix ans après (25).

(24) DEBRÉ (R.) et CORDEY. Essai sur l'étiologie de la tuberculose de la seconde enfance. *Revue française de pédiatrie*, juin et août 1925, p. 16 et 158. CORDEY (F.). *Thèse de Paris*, 1925. WALLGREN et LUNDBLOM. Le moment de l'apparition de la tuberculose du squelette. *Die Tuberkulose*, juin 1935, p. 164. WORINGER. Kératite phlycténulaire. *Soc. de Pédiatrie*, 8 novembre 1936, p. 656. Voir *Réunion pédiatrique de l'Est*, sur *Bull. de la Soc. de pédiatrie*, 8 novembre 1936.

(25) Certains auteurs considèrent la kératite phlycténulaire comme une manifestation analogue aux nodosités de l'érythème noueux. Cette manière de voir est très discutable. Il est possible qu'une poussée de kératite puisse apparaître au cours d'un érythème noueux ; nous n'avons pas le souvenir d'avoir observé cette concordance ; elle doit donc être

On pourrait en dire autant de la plupart des autres affections scrofulo-tuberculeuses. De plus, en raison de leur caractère récidivant, certaines manifestations précoces peuvent apparaître à la période tardive ; c'est encore le cas de la kératite phlycténulaire (26).

C'est une règle assez générale, nous l'avons indiqué, que les foyers scrofulo-tuberculeux sont d'autant plus nombreux que l'enfant est plus jeune. A mesure que l'âge avance, la scrofulo-tuberculose, de multilésionnelle qu'elle était d'abord, tend à devenir unilésionnelle. Bien qu'elle comporte nombre d'exceptions, cette règle se vérifie assez souvent. Ceux qui ont adopté les théories de Ranke pensent que plus l'infection bacillaire est ancienne, plus le sujet est allergique et plus les manifestations de la tuberculose ont tendance à se localiser.

Mais cette manière de voir ne doit être acceptée qu'avec réserves, car les vues de Ranke sont passibles de beaucoup d'objections (27).

assez rare. La kératite phlycténulaire se distingue de l'érythème noueux en ce qu'elle ne s'accompagne pas de fièvre comme l'érythème noueux et en ce qu'elle récidive souvent, alors que les récidives d'érythème noueux sont exceptionnelles.

(26) Cette fixation de l'âge de la bacilleuse au moment où apparaissent certaines localisations n'est possible que si l'on peut déterminer exactement la date de contagion. Or, dans nombre de cas, cette date est impossible à préciser. Dans beaucoup d'autres, on la fixe en se fondant sur la première cuti-réaction positive. Mais on ne tient pas compte de ce fait capital : très souvent, il n'y a pas une contagion unique, se produisant à une certaine minute déterminée, mais des contagions successives et se répétant pendant des mois, à des intervalles variables.

(27) Nous en présenterons brièvement quelques-unes.

Hormis la période primaire, bien définie depuis Parrot, représentée par le tubercule initial et son ganglion satellite, et qu'il n'était peut-être pas très utile d'appeler « complexe primaire », les périodes secondaire et tertiaire de Ranke sont mal délimitées, surtout la période secondaire. Celle-ci, tantôt très courte, tantôt très longue, tantôt occulte, tantôt manifeste, comprend des affections de sièges variés et d'évolutions différentes, auxquelles il est bien difficile d'assigner des caractères communs.

Chez des adultes atteints de tuberculose pulmonaire ulcéro-caséuse, manifestation de la période tertiaire, on peut constater des foyers de tuberculose ostéo-articulaire en évolution, voire une péritonite ou une méningite tuberculeuse, accidents qu'on rattache à la période secondaire.

Certaines arthrites tuberculeuses isolées, de la hanche ou du genou

III. Quelle que soit l'opinion que l'on adopte sur leur origine et sur la phase de l'évolution de la tuberculose à laquelle elles se produisent, il reste acquis que les manifestations de la scrofule sont de nature tuberculeuse, mais qu'elles se distinguent des formes ordinaires de la tuberculose par toute une série de caractères.

Leur évolution est à peu près apyrétique.

Elles sont compatibles avec un assez bon état général.

Elles guérissent souvent sans que le malade ait présenté ou présente plus tard des signes de tuberculose évolutive, particulièrement des signes de tuberculose pulmonaire ou de tuberculose viscérale.

Leur guérison, surtout lorsqu'elle a lieu avant quinze ans, laisse l'organisme dans un certain état de prémunition ; elles lui confèrent un degré plus ou moins élevé d'immunité.

V. — PATHOGÉNIE DE LA SCROFULO-TUBERCULOSE

Puisque les manifestations de la scrofule sont dues pour la plupart à des bacilles qui, partis d'un foyer initial, sont transportés par le sang en divers points de l'organisme, pourquoi, au lieu de déterminer une tuberculose généralisée, une granulie, ces bacilles produisent-ils une affection localisée du type scrofuleux ? Pourquoi les bacilles s'arrêtent-ils en un point plutôt que dans un autre et quelles sont, en ce point, les conditions qui en favorisent la multiplication ? Pourquoi le foyer ainsi créé va-t-il évoluer d'une manière si spéciale, sans grande tendance à l'extension, à la généralisation, sans fièvre

par exemple, survenant chez des sujets un peu âgés, pourraient fort bien être considérées comme des accidents de la période tertiaire.

Admettre le schéma de Ranke dans sa rigueur implique qu'on attribue aux seules réactions allergiques les formes si diverses des lésions tuberculeuses. Or, d'autres facteurs que l'allergie contribuent sans doute à déterminer ces formes.

Le polymorphisme des manifestations tuberculeuses ne se prête pas à une classification aussi systématique que celle de Ranke.

Pour situer dans la seconde ou la troisième des périodes du schéma de Ranke telle ou telle manifestation de la tuberculose, il faut souvent violenter les faits et les faire entrer de force dans un cadre vraiment trop rigide.

ou à peu près sans fièvre, sans troubles sérieux de l'état général ? Pourquoi ces affections scrofuleuses sont-elles propres à l'enfance ?

Il est difficile d'apporter une solution ferme à tous ces problèmes. Cependant, certains faits et quelques remarques permettent de proposer une explication à la plupart d'entre eux.

Pour expliquer la genèse d'une tuberculose, il faut tenir compte de la qualité et de la quantité des bacilles qui l'ont déterminée, puis de l'état de réceptivité ou de résistance de l'organisme qui les reçoit, enfin des conditions qui les fixent sur certains points et leur permettent de s'y développer.

I. En ce qui regarde la genèse de la scrofule, on ne saurait accorder une grande importance à la *qualité du virus tuberculeux*.

Lorsqu'on eut séparé le bacille de la tuberculose bovine de celui de la tuberculose humaine, quelques auteurs avancèrent que la plupart des lésions scrofule-tuberculeuses sont dues au premier de ces germes, lequel aurait pénétré dans l'organisme de l'enfant par ingestion de lait cru. Mais, par la suite, le bacille de la tuberculose humaine fut trouvé dans ces lésions au moins aussi souvent que celui de la tuberculose bovine et l'on dut abandonner cette manière de voir. Certains auteurs, M. Ravaut, M. Paisseau (28) et leurs collaborateurs, ont attribué les manifestations de la scrofule à l'ultra-virus tuberculeux. Mais tout ce qui a été avancé sur celui-ci est soumis, à l'heure présente, à une revision critique. Si, comme on l'affirme, cet ultra-virus n'existe pas, si ce qu'on a appelé de ce nom n'est qu'un virus à bacilles extrêmement rares, il faut abandonner cette manière de voir.

II. Lorsque les bacilles pénètrent dans la circulation en *grand nombre*, surtout s'ils envahissent un organisme faiblement résistant, il en résulte une tuberculose généralisée, une granulie aiguë, rapidement mortelle. Si le nombre des bacilles qui sont entrés dans la circulation est assez modéré et si l'organisme possède un certain degré de prémunition, il peut

(28) PAISSEAU (G.), VALTIS et SAENZ (A.). *La Presse Médicale*, 9 février 1929 ; PAISSEAU et OUMANSKY. *Ibid.*, 1^{er} février 1930, p. 147. OUMANSKY, *Thèse de Paris*, 1930.

en résulter une granulie discrète, susceptible de guérir ou de se terminer par une lésion locale chronique.

Lorsque le nombre des bacilles qui pénètrent dans le courant circulatoire est faible, si l'organisme est très résistant, il peut n'en résulter aucune lésion (29). Si l'état de prémunition n'atteint pas un degré suffisant, il se produira une lésion locale qui, chez l'enfant, revêtira la forme de la scrofule.

III. Toute une série d'observations montrent en effet que la forme et l'évolution si spéciales des affections scrofule-tuberculeuses dépendent surtout de ce que l'organisme envahi par des bacilles, sans doute peu nombreux, possède vis-à-vis d'eux un certain degré de résistance, mais une résistance relative et incomplète.

D'après quelques statistiques, les enfants de parents tuberculeux contractent des tuberculoses moins graves que les enfants de parents sains (30) ; ces tuberculoses revêtent ordinairement la forme d'affections scrofuleuses. On en peut conclure que des états de résistance plus ou moins complets peuvent se transmettre par hérédité.

La coexistence de la syphilis congénitale et de la scrofule est assez fréquente ; il semble que le terrain hérédo-syphilitique, ensemencé par le virus tuberculeux, soit plus apte qu'un autre à réagir par des manifestations du type scrofuleux.

Parmi les faits qui montrent l'importance des conditions antérieures de l'organisme pour le développement de la scrofule, il faut citer ceux qu'on observe parfois chez les enfants vaccinés par le BCG. Chez eux, on peut voir apparaître des manifestations qui, le plus souvent, revêtent la forme d'accidents scrofuleux et ne s'en distinguent que par la rapidité très grande de la guérison.

J'en ai rapporté plusieurs cas (31). Dans l'un, un enfant vacciné à la naissance, arrivé à l'âge de quatre mois, présenta un *lichen scrofu-*

(29) L'expérimentation et la pathologie humaine ont fait voir que des bacilles tuberculeux peuvent passer dans la circulation sanguine, surtout à la période initiale de l'infection, n'y faire qu'un bref séjour et en être éliminés sans avoir déterminé de lésion.

(30) ARLOING et DUFOURT. Réflexions sur le cycle de l'infection tuberculeuse humaine. *La Presse Médicale*, 14 décembre 1932, p. 1877.

(31) *Clinique des maladies de la première enfance*, 2^e édition, Paris, 1931, p. 556.

losorum typique et deux petites gommes tuberculeuses ; celles-ci s'ouvrirent, éliminèrent leur contenu et se cicatrisèrent en deux semaines ; le lichen s'effaça en même temps ; la cuti-réaction était positive. Dans un autre cas, toujours à quatre mois, un enfant prévenu présenta des *spina ventosa* à quatre doigts ; sa cuti-réaction était positive ; il guérit en l'espace de deux mois. MM. Weill-Hallé, Turpin et M^{me} Maas ont observé, chez des enfants vaccinés par le BCG, des adénites suppurées du cou très vite guéries après ouverture et un cas d'ostéo-arthrite radio-carpienne qui se termina aussi rapidement par la guérison (32). M. Heynsius van den Berg [d'Amsterdam] (33) et M. Jauréguy [de Montevideo] (34) ont observé des faits du même genre.

On a discuté la question de savoir si ces accidents sont dus au BCG lui-même, ou à un virus tuberculeux actif ayant surinfecté un enfant vacciné. Aujourd'hui, on admet qu'il s'agit d'une surinfection. On est donc conduit à conclure que, *chez des sujets possédant un certain degré d'immunité, les manifestations tuberculeuses revêtent l'aspect de la scrofule, et que, chez les vaccinés, elles se distinguent par leur guérison très rapide.*

Donc, lorsque la tuberculose prend la forme de scrofule, c'est surtout à cause des conditions antérieures de l'organisme dans lequel le virus a pénétré. L'existence préalable d'un certain degré d'immunité semble bien être une de ces conditions et tout ce qui a été exposé ici permet de penser que, dans nombre de cas, le développement de l'affection scrofuleuse renforce et complète cette résistance ; elle la transforme en une sorte d'immunité.

IV. Pour expliquer la *localisation* du virus tuberculeux sur tel ou tel point, ce qu'on pourrait appeler le *hasard de la dispersion* joue sans doute un rôle. Cependant, si l'on considère que cette localisation s'opère presque toujours sur certaines régions ou organes et presque jamais sur d'autres, on est obligé de conclure que ce facteur est, à lui seul, impuissant à expliquer cette localisation. Il faut sans doute faire intervenir d'autres conditions : les *propriétés de certains organes ou*

(32) WEILL-HALLÉ (B.), TURPIN (R.) et M^{me} MAAS (A.). Etude clinique des réactions à l'infection tuberculeuse des nourrissons par ingestion de BCG. *La Presse Médicale*, n° 86, 26 octobre 1932.

(33) *Revue de phisiologie*, janvier-février 1933.

(34) Soc. de Pédiatrie de Montevideo, 18 août 1933. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, novembre 1933, p. 501.

tissus chez certains enfants, particulièrement la disposition à la stase vasculaire. On a déjà remarqué que les os en période de croissance offrent un terrain favorable à la colonisation du bacille de Koch et que celle-ci s'opère surtout dans leurs régions les plus fertiles, c'est-à-dire dans leur bulbe, là où l'os en croissance est le siège d'un afflux sanguin.

Pour compléter l'examen des problèmes que soulève l'étude de la scrofule, il faut signaler une manière de voir émise par M. Et. Burnet (35), développée par M. Jesionek et M. Woringer, et adoptée par quelques auteurs (36), à savoir que l'immunité relative dont jouissent les sujets qui en sont atteints est due surtout à ce que la plupart de ses manifestations intéressent la peau. D'après eux, la défense antituberculeuse de l'organisme serait surtout dévolue au tégument externe : c'est dans les cellules basales de l'épiderme que s'élaboreraient les substances antituberculeuses ; mais elles ne les produiraient que lorsqu'elles sont en contact avec une lésion tuberculeuse. Un foyer bacillaire ne serait vaccinant que s'il est en contact avec la peau.

Il est possible que ce facteur puisse intervenir dans l'établissement de l'immunité, encore que son action ne soit pas démontrée. Mais, ce qu'il faut remarquer ici, c'est qu'il y a bien d'autres facteurs d'immunité antituberculeuse que la scrofule du jeune âge. Si l'étude de celle-ci est capitale parce qu'elle a permis de démontrer, pour la première fois, l'existence de cette immunité, elle n'est pourtant pas le procédé le plus commun par lequel elle s'acquierte. Combien d'hommes sont plus ou moins prémunis contre la tuberculose sans avoir jamais présenté des manifestations cutanées de la scrofule, mais parce qu'ils sont des porteurs occultes de bacilles tuberculeux, emmurés dans des foyers quiescents des poumons et des ganglions médiastinaux ! Et l'application de la découverte de Calmette et Guérin ne nous montre-t-elle pas que les enfants qui ont ingéré le BCG acquièrent un état de prémunition sans l'intervention d'une lésion cutanée ?

(35) Ces *Annales*, 1912, p. 868 ; Soc. de Biol., 1912, p. 384 ; Soc. d'études sur la tuberculose, janvier 1913.

(36) LOUBEYRE et STILHART. Tuberculose ganglionnaire cervicale et tuberculose pulmonaire chez un indigène. *L'Algérie Médicale*, mai 1938, p. 270.

ALLERGIE ET IMMUNITÉ PRODUITES PAR LES BACILLES MORTS ÉMULSIONNÉS DANS DES HUILES VÉGÉTALES

par E. COULAUD.

(*Institut Pasteur, laboratoire de recherches sur la tuberculose.*)

La sensibilité tuberculinique et la résistance aux infections d'épreuve conférées aux animaux de laboratoire par des injections de bacilles morts émulsionnés dans l'eau physiologique ne sont jamais aussi précoces, jamais aussi nettes, en somme jamais véritablement comparables à ce qu'on réalise en injectant des bacilles vivants et virulents.

Le fait apparaît assez banal. Il m'a semblé pourtant qu'en utilisant encore des bacilles morts, mais en les émulsionnant cette fois dans l'huile, j'obtiendrais peut-être des résultats meilleurs. C'est pourquoi, dès 1923 (1), j'ai publié une première note sur ce sujet qui m'a incité depuis à de nombreuses recherches.

Mais la possibilité de réaliser une allergie tout à fait remarquable avec des bacilles morts enrobés dans la paraffine a paru reléguer au second plan les résultats pourtant appréciables obtenus avec les bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive. Certains auteurs n'ont-ils pas été jusqu'à leur dénier tout intérêt (2) ? Il y a là, me semble-t-il, une exagération manifeste. Aussi m'est-il apparu nécessaire de publier les résultats de quelques expériences. Ceux-ci me paraissent d'autant plus intéressants qu'ils sont obtenus avec des huiles végétales, résorbables, dont l'emploi ne saurait soulever les mêmes critiques, plus ou moins justifiées peut-être, que les huiles minérales.

(1) COULAUD (E.). *C. R. Soc. de Biol.*, **89**, 1923, p. 1023.

(2) SAENZ (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 338.

J'étudierai successivement dans ce mémoire les lésions produites par les injections intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive, l'allergie produite par les injections sous-cutanées ou intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive neutre, l'huile d'olive rance, l'huile de ricin, et la résistance aux infections d'épreuve des animaux ainsi préparés.

I. — Etudes des lésions produites chez le lapin par les injections intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans des huiles végétales.

L'huile d'olive, dans laquelle on a émulsionné des bacilles tuberculeux morts, prélevés humides sur une pomme de terre, donne lieu, quand on l'injecte *sous la peau* du lapin ou du cobaye, à un abcès caséux. Cet abcès, à dose égale de bacilles injectés, est plus important et sa résorption est plus lente que lorsque l'émulsion a été pratiquée dans l'eau physiologique.

Mais si on injecte *dans la veine* du lapin les bacilles morts en émulsion huileuse, on produira des lésions à prédominance pulmonaire infiniment plus graves et plus durables. Ce sont elles qui seront décrites dans ce chapitre.

Leur étude n'est pas facile. Il est rare de pouvoir les isoler à l'état de pureté. Chez le lapin, en effet, la production rapide de lésions pulmonaires importantes détermine l'apparition de lésions aiguës ou subaiguës dues à des germes « de sortie ». Les lésions tuberculeuses voisinent alors avec des pneumonies ou des bronchopneumonies dues à des germes divers et sur lesquelles j'ai déjà insisté dans un précédent mémoire (3). La mise en évidence du bacille de Koch dans un tissu pathologique ne permet même plus d'affirmer sa nature tuberculeuse. Les bacilles ayant été introduits dans la veine sont répartis dans les points les plus divers du poumon et voisinent dans le même champ microscopique avec des lésions dues aux germes de sortie.

Cette étude a porté sur 22 lapins n'ayant reçu aucune autre

(3) COULAUD (E.). Ces Annales, 44, 1930, p. 59.

injection que l'injection de bacilles tuberculeux émulsionnés dans l'huile d'olive. Les animaux sont classés par ordre de survie à l'inoculation, qu'ils soient morts ou qu'ils aient été sacrifiés.

TEMPS ÉCOULÉ entre l'infection et l'autopsie	NOMBRE D'ANIMAUX
1 jour	1 lapin (21).
4 jours	1 lapin (567).
7 jours	1 lapin (20).
12 jours	1 lapin (574).
19 jours	1 lapin (568).
20 jours	1 lapin (504).
30 jours	2 lapins (1017-1018).
33 jours	2 lapins (14-1010).
45 jours	3 lapins (573-1009-514).
50 jours	1 lapin (505).
52 jours	1 lapin (515).
55 jours	1 lapin (26).
60 jours	1 lapin (510).
70 jours	1 lapin (511).
90 jours	2 lapins (512-515).
570 jours	2 lapins (1030-1036).
660 jours	1 lapin (418).

Pour l'étude des lésions séquelles (plus d'un an après l'injection) j'ai pu utiliser également une dizaine d'animaux réinfectés avec des germes virulents, mais sacrifiés en bon état, ne présentant aucune lésion tuberculeuse macroscopique ou microscopique.

*
* *

Les lésions macroscopiques se présentent, les premiers jours, sous forme de lésions strictement pulmonaires : foyers hépatisés siégeant le plus souvent au niveau des bases. Chez certains animaux, les nodules demeurent isolés et ne semblent pas présenter de grandes tendances à la confluence, mais, chez d'autres au contraire, les bases entières apparaissent hépatisées.

Entre le vingtième et le quarantième jour, les deux types de lésions se différencient encore. Alors que certains animaux continuent à présenter des lésions pulmonaires assez discrètes, mais qui ont tendance à devenir corticales, d'autres font de véritables pneumonies caséeuses bilatérales des deux bases

(fig. 1) qui tuent l'animal rapidement, d'autres creusent leur base de cavernes *profondes*, anfractueuses (fig. 2), traversées par des cordages qui représentent des bronches et des vaisseaux, ou *superficielles*, qui se distendent comme des bulles emphysémateuses (fig. 3).

Ces graves lésions des bases s'accompagnent de symphyse



FIG. 1. — Pneumonie caséuse des bases.

pleurale localisée en placard ou, au contraire, d'adhérences qui ont l'aspect de brides cordiformes.

Ces animaux meurent presque tous avant soixante ou soixante-dix jours. Seuls survivent ceux qui présentent des nodules de dimension modérée, qui évoluent vers la régression. Souvent, au bout de trois mois, ces animaux ont retrouvé,

sauf sur les bords des poumons qui demeurent indurés, une souplesse très grande du parenchyme pulmonaire. Sacrifiés au bout d'une année ou deux, ils ne présentent plus macroscopiquement qu'un aspect grisâtre des bases, d'ailleurs parfaitement souples, et qui s'accompagne souvent d'un léger piqueté anthracosique.



FIG. 2. — Cavités profondes des bases.

Lorsque l'injection de bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive est pratiquée chez un animal allergique, les lésions sont rigoureusement semblables aux lésions de primo-inoculation (six animaux : 491, 492, 493, 494, 495, 496).

Si les bacilles émulsionnés dans l'huile d'olive ont été dégraissés successivement pendant cinq jours dans l'éther et

cinq jours dans le chloroforme, on obtient des lésions identiques avec foyers de nécrose, cavernes, etc. (quatre animaux : 567, survie quatre jours ; 574, survie douze jours ; 567, survie dix-neuf jours ; 573, survie quarante-cinq jours).

* * *

L'étude histologique des lésions est intéressante à plus d'un titre.

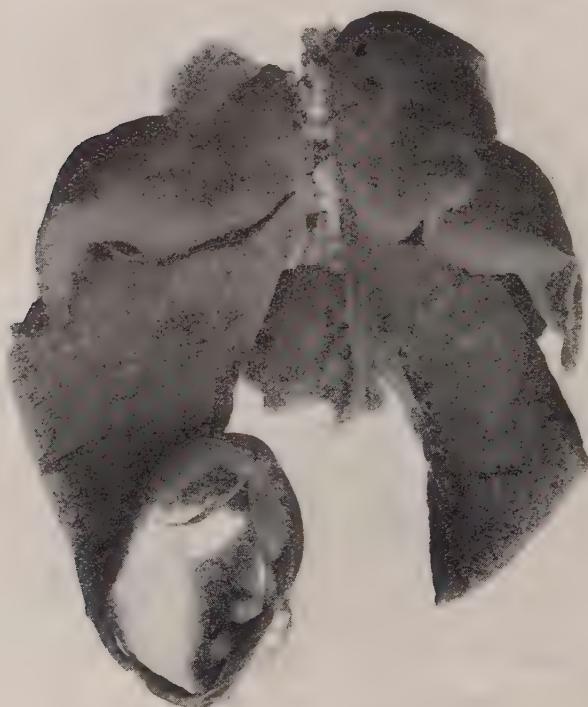


FIG. 3. — Cavité superficielle distendue.

Les désordres causés par l'inoculation de l'émulsion huileuse peuvent être divisés en lésions précoces et lésions tardives.

Examинés du dixième au dix-huitième jour, les placards pneumoniques apparaissent au microscope assez nettement lobulés (fig. 4); chaque lobule, constitué par des cellules épithélioïdes, étant centré par une bulle claire (l'embolie capillaire huileuse, dissoute par les réactifs). A la périphérie des lobules, on remarque des cellules de la trame. Celles-ci, très hyperplasiques, se présentent parfois en plusieurs couches. On ne remarque pas de lymphocytes, sauf quelques îlots très denses, isolés çà et là, qui ne sont peut-être que les reliquats d'îlots lymphoïdes juxta-bronchiques. Pas de cellules géantes. Les



FIG. 4.

colorations à l'orceine mettent en évidence des petits vaisseaux et des bronches oblitérés que rien, sans coloration élective des fibres élastiques, ne permettrait d'identifier.

Après le vingtième jour, et surtout dans le cas où l'injection huileuse était particulièrement infectante (2 centigrammes de bacilles par 0 c. c. 5 d'huile d'olive ou davantage), la nécrose apparaît. Elle débute au pourtour des bulles claires, où les noyaux de cellules épithélioïdes s'œdématisent et deviennent piénotiques. Au voisinage de ces foyers nécrotiques, la coalescence de quelques cellules épithélioïdes peut amener la formation de cellules géantes à trois ou quatre noyaux. La rapi-



FIG. 5.

dité de la fonte caséeuse ne permet pas davantage. On en trouvera de plus nombreuses et de plus grande dimension après élimination des zones nécrosées quand une réaction conjonctive intense limitera les cavernes, qui pourront atteindre des dimensions considérables, 4 centimètre 5 de diamètre par exemple, et qui détermineront toujours la mort des animaux dans des délais qui pourront exceptionnellement atteindre trois ou quatre mois.

Au contraire, les lésions *plus discrètes* disséminées dans les poumons sont susceptibles de régression. Ces régressions s'observent surtout vers le cinquantième jour. Des éliminations

de petits foyers pneumoniques (fig. 5) comportent la destruction de nombreuses cloisons interalvéolaires, ce qui donne l'explication des dimensions anormales de certains alvéoles chez des animaux guéris. On est frappé, dans ces cas, de la

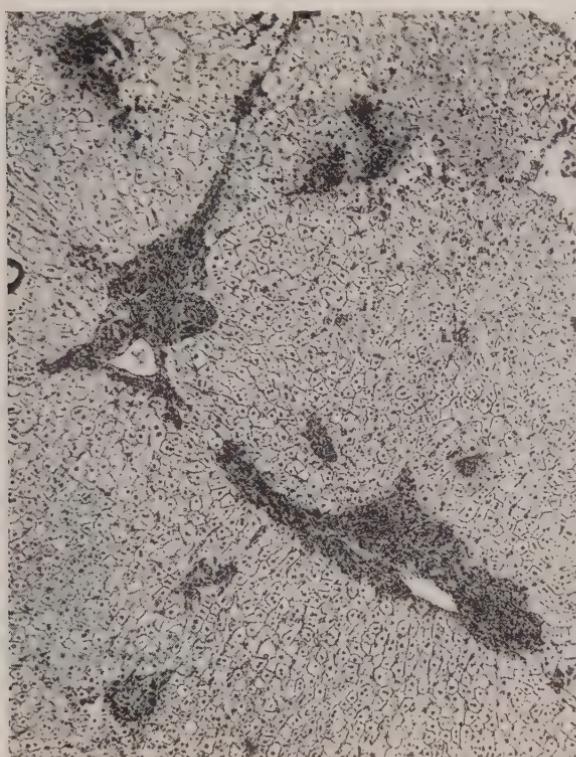


FIG. 6.

faible intensité des réactions conjonctives si marquées autour des lésions cavitaires importantes.

D'une façon générale, on peut admettre que les lésions pulmonaires des lapins chez qui on a injecté dans la veine des bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive sont comparables aux lésions obtenues chez le lapin et chez le cobaye par injection intra-trachéale de la même émulsion.

Mais les lésions obtenues par injections intraveineuses de

bacilles morts émulsionnés dans l'huile ne sont pas rigoureusement limitées aux poumons comme on eut pu le supposer, les particules huileuses étant censées s'arrêter en totalité au niveau des capillaires pulmonaires.

Au vingtième jour, en effet, chez les lapins ainsi préparés on observe dans le foie au voisinage immédiat des espaces de Kiernan de nombreux follicules tuberculeux rudimentaires.



FIG. 7.

Trois ou quatre cellules épithélioïdes, parfois une ou deux cellules géantes de très petites dimensions et des lymphocytes en quantité notable.

De loin en loin, entre l'espace de Kiernan et la veine sus-hépatique on remarque une ou deux petites taches dont la coloration apparaît plus foncée que les cellules hépatiques, toujours claires quand il s'agit de pièces fraîches, fixées aussitôt après la mort. Ces taches sont constituées par deux ou trois cellules épithélioïdes, rarement accompagnées de deux ou trois lymphocytes (fig. 6).

Ces lésions du foie régressent d'ailleurs rapidement et donnent lieu autour des espaces de Kiernan à des formations fibreuses qui esquissent l'aspect des cirrhoses hépatiques telles qu'on les observe chez l'homme. Mais chez le lapin dont le foie est souvent parasité, ces scléroses sont d'ordre assez banal et pourraient être mal interprétées si on n'avait pas sous les yeux la série des coupes du foie des animaux ayant reçu dans



FIG. 8.

la veine les émulsions huileuses de bacilles morts, les animaux ayant été bien entendu sacrifiés à des dates variables.

*
* *

L'étude à longue échéance (après un an ou deux par exemple) des poumons des lapins ayant reçu dans la veine les émulsions de bacilles morts dans l'huile d'olive, donne lieu à des constatations bien curieuses.

Il ne s'agit bien entendu dans ces cas (la longue survie des

animaux sacrifiés en bonne santé en est la preuve), que des lapins ayant présenté des lésions relativement discrètes, des lapins qui ont échappé à la formation de grandes cavernes consécutives à des fontes caséuses considérables.

On est tout d'abord frappé de l'aspect normal du parenchyme en certains points, notamment aux sommets où les embolies huileuses apparaissent plus rares. Au contraire au

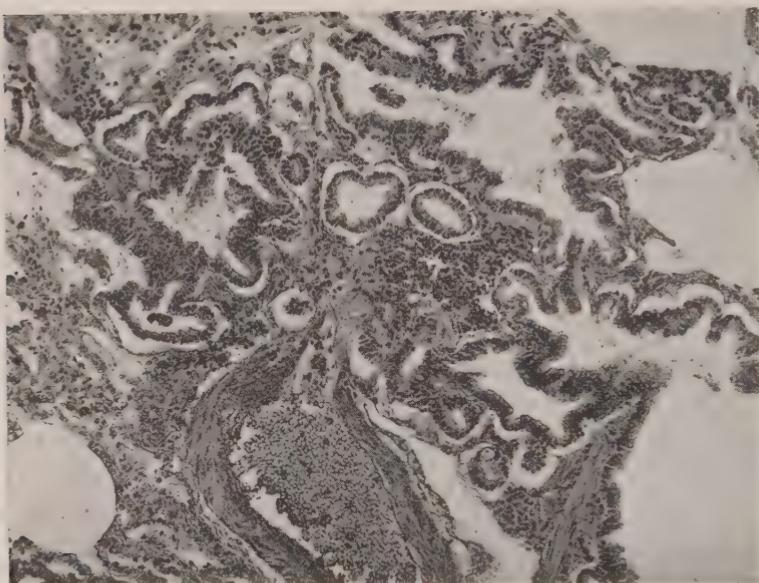


FIG. 9.

niveau des bases, des aspects également normaux voisinent avec des zones de parenchyme pulmonaire profondément remaniées.

Les cavités alvéolaires sont de dimensions extrêmement irrégulières, des alvéoles de dimensions normales s'observent auprès d'alvéoles énormes dont les parois épaisses ne présentent pourtant *aucune réaction fibreuse importante*. Dans les zones où les alvéoles sont de dimensions assez normales on voit en de nombreux points des parois au contact les unes des autres, comme s'il s'agissait d'aspects atélectasiques qui

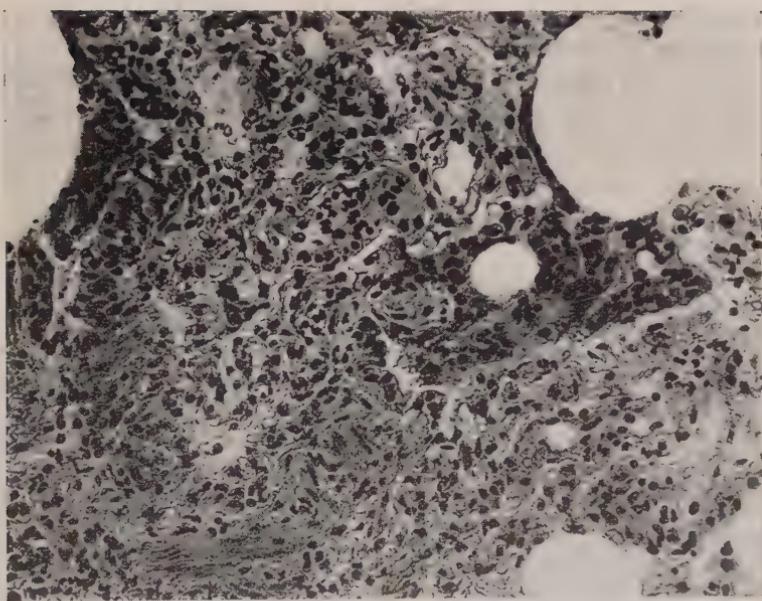


FIG. 10.

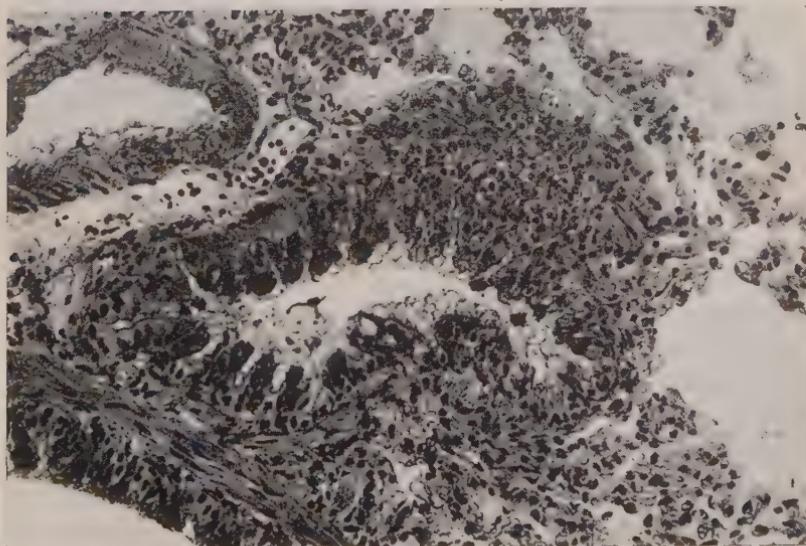


FIG. 11.

peuvent s'expliquer ainsi que nous le verrons plus loin par des obstructions bronchiques.

Car ce qui frappe en effet dans ces poumons, c'est l'extraordinaire faculté de prolifération dont semblent doués les épithéliums des bronches. Ces épithéliums en maintes régions prolifèrent à l'intérieur des bronches au point sans doute de les oblitérer quelquefois (fig. 7). Il ne s'agit pas là de desqua-

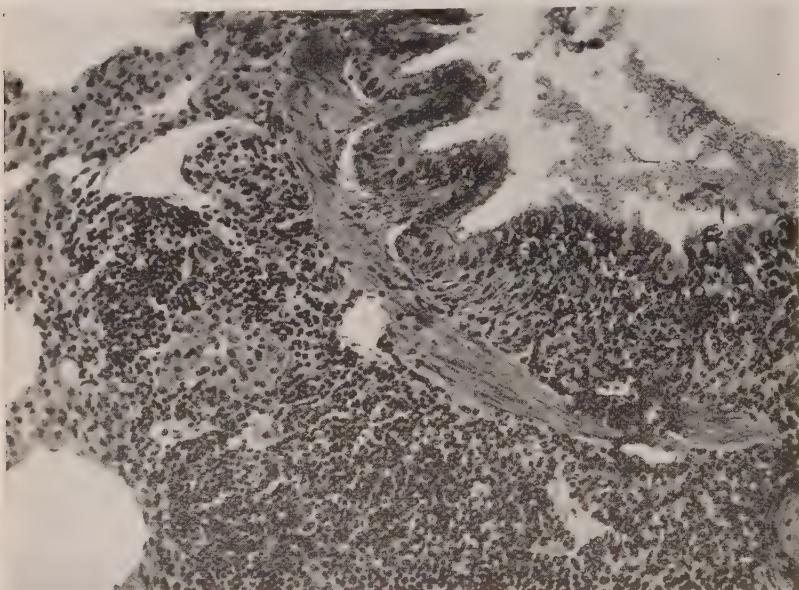


FIG. 12.

mations « post mortem » ou d'artifices de coupes, car des examens systématiques permettent de retrouver le point d'implantation sur la paroi du bourgeon qui prolifère (fig. 8).

Mais les épithéliums bronchiques ne prolifèrent pas seulement à l'intérieur des cavités bronchiques sous forme de bourgeons, ils vont tapisser peu à peu les cavités, les grands alvéoles qui ont été décrits précédemment. Aussi est-on surpris dès l'examen des coupes de voir le grand nombre de bronches qui s'observent dans ces poumons. Ce ne sont en réalité que des cavités pulmonaires ne présentant d'ailleurs à leur pourtour aucune réaction inflammatoire, que les cellules

bronchiques tapissent, en gagnant de proche en proche (fig. 9). Il est vrai que dans un cas exceptionnel, le point de départ de cette prolifération ne semblait pas avec évidence relever d'une bronche voisine. On constatait des amas de cellules bronchiques isolées, désordonnées, rappelant des cellules tumorales par leur absence d'organisation et qui en un point pénétraient dans une cavité pulmonaire qu'elles tapissaient de cellules

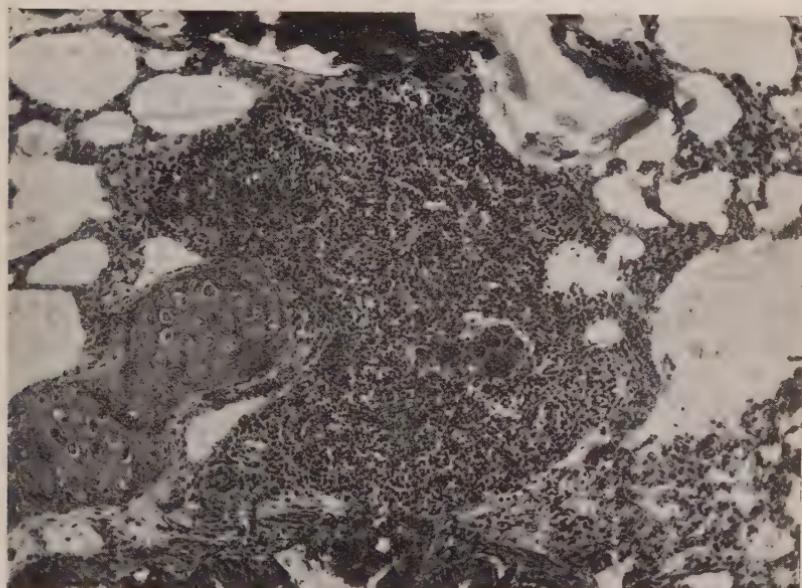


FIG. 13.

cubiques, régulières, qui gagnaient de proche en proche (fig. 10).

Une autre fois, d'ailleurs, j'ai pu observer des proliférations de l'épithélium bronchique d'un type particulier, cette prolifération étant excentrique, la lumière bronchique étant perméable (fig. 11).

Dans la majorité des cas, ces proliférations des épithéliums m'ont semblé avoir un point de départ aux environs des nodules lymphoïdes juxta-bronchiques dont il faut noter l'hypertrophie manifeste et durable, deux ans parfois après l'inoculation, chez tous les lapins ayant reçu dans la veine une

émulsion huileuse de bacilles morts. Des coupes en série m'ont permis dans plusieurs cas de retrouver au centre de ces nodules des cellules épithélioïdes (fig. 12) parfois anthracosiques (fig. 13). On peut se demander si la persistance de ces lésions ne joue pas un rôle important dans les hyperplasies véritablement extraordinaires de l'épithélium des bronches des animaux infectés dans la veine avec des émulsions huileuses de bacilles morts.

II. — L'état allergique conféré aux animaux d'expérience par des injections sous-cutanées ou intraveineuses de bacilles tuberculeux morts, dégraissés ou non, émulsionnés dans des huiles végétales diverses.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Le 24 mars 1923, 6 lapins adultes de 2 kilogr. 800 à 3 kilogrammes reçoivent dans la veine une injection de 2 centigrammes (4) de bacilles tuberculeux (souche bovine Vallée) tués par la chaleur (vingt minutes à l'autoclave à 120°) émulsionnés dans 0 c. c. 5 d'huile d'olive neutre.

Eprouvés à la tuberculine (1 cent. cube de la solution de tuberculine brute au cinquantième intraveineuse) ils ne réagissaient pas le 31 mars, soit sept jours après l'inoculation. Mais le 12 avril 1923, dix-neuf jours après celle-ci, les réactions thermiques étaient les suivantes :

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 7 heures après l'injection de tuberculine en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
72 C	39,2	41,1	1,9
73 C	39,6	41	1,4
74 C	39,2	41,3	2,1
75 C	39,1	41,1	2
504.	39,2	41,5	2,3
505.	40,2	41,5	1,3

Trois témoins de même poids avaient, le même jour, reçu dans la veine, la même quantité de bacilles morts émulsionnés dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique (émulsion volontairement peu homogène). Tuberculinés le même jour que les animaux précédents, les résultats furent les suivants :

(4) Toutes les pesées de bacilles mentionnées dans ce mémoire ont porté sur des bacilles à l'état humide.

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 7 heures après l'injection de tuberculine en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
503 bis	39,3	40,2	0,9
506.	40,2	41,4	1,2
507.	38,4	39,6	1,2

Trois autres témoins, à la même date, reçoivent dans la veine la même quantité de bacilles morts émulsionnés (émulsion très fine) dans 1/2 cent. cube d'eau physiologique.

Tuberculinés suivant la même technique et le même jour que les précédents, les résultats furent les suivants.

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 7 heures après l'injection de tuberculine en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
507 bis	39,2	39,9	0,7
508.	39,8	39,6	"
508 bis	39	39,5	0,5

On pouvait sembler-t-il, déduire grossièrement de cette expérience que l'allergie semble fonction de l'importance des lésions produites par les bacilles tuberculeux morts. Les émulsions fines, aqueuses, donnant lieu à une date déterminée à des réactions négatives, alors que les émulsions aqueuses grossières qui produisent des lésions plus importantes conditionnent des réactions tuberculiniques très nettes et que les lésions dues aux embolies huileuses chargées de bacilles tuberculeux conditionnent des réactions tuberculiniques très intenses, comparables à celles que déterminent les infections virulentes.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Le 29 septembre 1937, 3 lapins adultes reçoivent dans la veine une émulsion de 1 centigramme de bacilles tuberculeux, tués à l'autoclave, émulsionnés dans 1/2 cent. cube d'huile d'olive.

Tuberculinés le 13 octobre 1937 (1 cent. cube de la solution de tuberculine brute au centième par voie intraveineuse), ils présentent les réactions thermiques suivantes :

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures plus tard en degrés	TEMPÉRATURE 24 heures plus tard en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
584 B.	38,3	39,2	38,8	0,9
583 B.	38,5	39,5	38,6	1
581 B.	38,8	39,4	37,8	1,3

Deux lapins ayant reçu, le même jour, *sous la peau*, la même émulsion de bacilles ont présenté les réactions thermiques suivantes :

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures plus tard en degrés	TEMPÉRATURE 24 heures plus tard en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
586 B	38,5	39,3	38,5	0,8
585 B	38,7	39,2	38,9	0,5

Deux autres lapins ayant reçu *sous la peau* la même dose de bacilles tués ont présenté les réactions suivantes :

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures plus tard en degrés	TEMPÉRATURE 24 heures plus tard en degrés	ÉLÉVATION thermique en degrés
588 B	38,8	39,2	38,9	0,4
587 B	38,5	39,3	39	0,8

Tous ces animaux ont été éprouvés de nouveau le 26 octobre 1937 (1 cent. cube de la solution de tuberculine brute au cinquantième par voie intraveineuse).

Les réactions observées ont été les suivantes :

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures plus tard en degrés	TEMPÉRATURE 8 heures plus tard en degrés	ÉLÉVATION maxima en degrés
584 B	37,5	40	39,2	2,5
583 B	38,7	40,6	40,5	1,9
581 B	38,4	40,3	38,5	1,9
586 B	37,8	39,4	38,6	1,6
585 B	38,8	39,9	39,6	1,4
588 B	39,2	39,5	39,8	0,3
587 B	38,3	39,4	38,4	0,8

Cette expérience confirmait l'expérience précédente mais en la précisant. Elle montrait que si l'excipient huileux joue un rôle dans la production d'une allergie intense avec des bacilles morts, la localisation pulmonaire intervient également.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — Deux lapins (514-515) sont inoculés le 24 avril 1923. Ils reçoivent dans la veine 2 centigrammes d'une culture tuberculeuse bovine émulsionnés dans 1 cent. cube d'huile d'olive neutralisée.

Ils sont éprouvés le 7 juin 1923 (six semaines après) avec 1 cent. cube d'une solution de tuberculine brute au dixième.

	TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 4 h. 30 après l'injection de tuberculine en degrés
514	38,6	40,5
515	39	41,4

Sacrifiés la semaine suivante, on constate que ces deux animaux présentent des lésions très discrètes des deux poumons, particulièrement discrètes chez le 515.

Cette expérience démontre que c'est vraisemblablement *la localisation pulmonaire* des lésions produites par l'émulsion huileuse de bacilles morts qui conditionne l'intensité de l'allergie plutôt que l'importance de ces lésions puisque chez ces deux animaux les lésions s'avéraient minimes.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE — Un lapin (573) est inoculé le 4 octobre 1923. Il reçoit dans la veine 2 centigrammes de bacilles tuberculeux (souche bovine Vallée) partiellement dégraissés par un séjour de cinq jours dans l'éther et de cinq jours dans le chloroforme et émulsionnés ensuite dans 1 cent. cube d'huile d'olive.

Tuberculiné le 18 février 1923 par injection intraveineuse de 1 cent. cube d'une solution de tuberculine brute au vingtième, il présente les réactions thermiques suivantes :

TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures plus tard en degrés	TEMPÉRATURE 7 heures plus tard en degrés	ÉLÉVATION maxima en degrés
39,3	40,4	40,6	1,3

Cette expérience montre que des bacilles dégraissés en partie puis émulsionnés dans l'huile d'olive, se comportent comme des bacilles non dégraissés.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE. — Trois lapins adultes sont inoculés le 11 février 1936. Ils reçoivent dans la veine 0 gr. 0125 de bacilles tuberculeux (souche bovine Vallée) tués à l'autoclave et émulsionnés dans 1/4 de centimètre cube d'huile de ricin.

Tuberculinés le 21 avril 1936 (injection intraveineuse de 1 cent. cube de tuberculine brute diluée au dixième), ils ont présenté les réactions suivantes :

TEMPÉRATURE avant l'injection de tuberculine en degrés	TEMPÉRATURE 5 heures après en degrés	TEMPÉRATURE 8 heures après en degrés	ÉLÉVATION thermique maxima en degrés
66 A	38,8	39,8	1,1
46 E	38,4	39,4	1
52 E	38,7	38,7	0,1

Un des trois animaux, le 52 E, n'a donc pas réagi à la tuberculine, mais le fait s'explique aisément puisqu'il est mort quatre jours plus tard. Son état général mauvais ne permettait sans doute pas la réalisation de l'allergie. Le fait est de notion banale.

Les deux autres ont réagi mais plus faiblement que les animaux ayant été inoculés avec des bacilles tuberculeux émulsionnés dans l'huile d'olive. Ce qui peut d'ailleurs s'expliquer sans faire intervenir la qualité de l'excipient, l'émulsion dans l'huile de ricin étant beaucoup plus difficile à réaliser du fait de la viscosité du produit ; d'assez grandes quantités de bacilles tuberculeux s'étaient déposées dans le fond de la cupule et ces lapins ne présentaient pas de lésions pulmonaires comparables à celles que déterminent les bacilles tuberculeux tués émulsionnés dans l'huile d'olive.

SIXIÈME EXPÉRIENCE. — Dans une note déjà ancienne (5) j'insistais sur le fait que les lapins sensibilisés à la tuberculine par des bacilles tuberculeux morts en émulsion huileuse injectés dans la veine ne peuvent être tués par une injection de tuberculine, même massive.

Sur une soixantaine de lapins préparés dans ces conditions et réinfectés en pleine période d'hypersensibilité tuberculinique je n'ai vu que trois fois la réinfection déterminer la mort presque immédiate.

Le 30 janvier 1928, 8 lapins neufs reçoivent dans la veine 1/2 cent. cube d'une émulsion huileuse (huile d'olive) contenant 1 centigramme de bacilles tuberculeux morts (souche Ay) tués par la chaleur, une demi-heure à l'autoclave à 120°.

Ils sont réinoculés le 26 mars 1928 (injection intraveineuse de 1/10 de milligramme de bacilles (souche Ay) émulsionnés dans l'eau physiologique).

Le 1015 est trouvé mort vingt-quatre heures plus tard, le 1016 quarante-huit heures plus tard et le 1018 trois jours plus tard.

La dose de réinfection était forte, assez inhabituelle, c'est peut-être la raison véritable pour laquelle dans cette seule série le fait a été observé.

On peut d'ailleurs se demander si certaines morts rapides

(5) COULAUD (E.). *Loc. cit.*

attribuées à « l'hypersensibilité » tuberculinique ne sont pas fréquemment causées par des germes de sortie qui, chez les animaux de laboratoire, peuvent tuer en deux ou trois jours.

Dans le cas particulier, chez aucun de ces trois animaux, il n'a été constaté de lésions paraissant dues à autre chose qu'aux inoculations bacillaires.

SEPTIÈME EXPÉRIENCE. — Si on sensibilise des lapins avec des bacilles tuberculeux virulents et que la réinfection soit pratiquée avec des bacilles tuberculeux tués, émulsionnés dans l'huile d'olive, les résultats sont tout différents et les morts par hypersensibilité sont plus fréquemment obtenues.

Six lapins neufs sont inoculés *sous la peau* le 13 mars 1923. Ils reçoivent 1/50 de milligramme de bacilles tuberculeux virulents (bovine Vallée) émulsionnés dans l'eau physiologique.

Tuberculinés le 8 avril 1923 avec 1 cent. cube (voie intraveineuse) d'une solution de tuberculine brute au cinquantième, ils présentaient une élévation thermique allant de 0°9 à 2°.

Le 12 avril 1923, ces lapins sont réinfectés dans la veine : 1 centigramme de bacilles morts (bovine Vallée) dans 1/2 cent. cube d'huile d'olive.

Le lapin 496 est trouvé mort le lendemain dans sa cage. Les cinq autres animaux n'ont pas souffert apparemment de la réinfection.

Le 24 avril 1923, une nouvelle réinfection est pratiquée par voie veineuse, 2 centigrammes de bacilles morts (bovine Vallée) dans 3/4 de cent. cube d'huile d'olive.

Les lapins 494 et 495 sont trouvés morts le lendemain matin dans leur cage.

Les 391, 392, 393, survécurent à ces deux réinfections.

Il est vraisemblable d'admettre que dans cette expérience c'est la dose massive de réinfection autant que la qualité de l'excipient qui a causé par hypersensibilité la mort des animaux si difficile à obtenir avec des doses minimales.

*
* *

De ces diverses expériences se dégagent diverses indications.

Une dose donnée de bacilles tuberculeux morts, émulsionnés *dans l'huile d'olive ou dans l'huile de ricin et injectée sous la peau* d'un lapin détermine chez cet animal un état allergique plus précoce et plus net que la même dose de bacilles morts

émulsionnés dans l'eau physiologique et injectée sous la peau.

Mais la même dose de bacilles morts (dégraissés ou non), émulsionnés dans l'huile d'olive ou l'huile de ricin, quand on l'injecte dans la veine du lapin, produit une allergie beaucoup plus précoce et nettement plus marquée. Cette allergie ne semble pas le fait du volume des lésions mais bien plutôt, dans le cas particulier, de leur localisation pulmonaire. Mais on a vu dans le chapitre précédent que tout en étant localisées en presque totalité au niveau des poumons, les lésions déterminées par les injections intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans l'huile ne sont pas *strictement* limitées à ces viscères. Il se rencontre en effet des petits follicules tuberculeux hépatiques dont l'existence pourrait être invoquée pour expliquer la précocité et l'intensité de l'allergie.

C'est pourquoi j'ai essayé de préciser le fait en pratiquant directement dans le poumon du lapin par voie transthoracique des injections de bacilles tuberculeux.

Mais le problème à résoudre s'est avéré difficile ainsi que le prouve l'expérience ci-dessous.

HUITIÈME EXPÉRIENCE. — Quatre lapins de la même portée (191, 196, 195, 194), nés le 6 août 1921, sont inoculés le 28 février 1922. On leur injecte dans le poumon, par voie transthoracique 1/100 de milligramme d'un bacille humain (souche humaine A).

Lapin 191. — Sacrifié mourant le 2 mars 1922, deux jours après l'inoculation. L'autopsie montre que l'injection a porté en partie dans le poumon, mais l'aiguille a traversé le lobe et produit une déchirure de 5 millimètres de long sur la face interne du poumon.

Lapin 196. — Mort de pasteurellose, le 25 juin 1922. Pas de lésions tuberculeuses macroscopiques.

Lapin 195. — Mort le 13 avril 1922. Congestion des deux bases, pas de lésions tuberculeuses sur les poumons.

L'échec de cette expérience ne m'a pas incité à la poursuivre et j'ai préféré inoculer de l'huile contenant des bacilles morts dans la trachée des cobayes.

NEUVIÈME EXPÉRIENCE. — Le 21 octobre 1937, 3 cobayes reçoivent dans la trachée 2 centigrammes de bacilles tuberculeux morts émulsionnés dans 1/4 de cent. cube d'huile d'olive.

Tuberculinés les 26 octobre 1937, 31 décembre 1937, 20 janvier 1938.

Deux cobayes reçoivent la même inoculation sous la peau.

80	+	?	?	+
37	+	?	+	++

Indiscutablement les cobayes inoculés dans la trachée, bien que du fait de la toux une partie de la dose infectante ait été éliminée, ont présenté une allergie plus précoce et plus nette que les témoins qui eux ont reçu sous la peau la totalité de la dose infectante.

Cette expérience me paraît donc confirmer nettement les précédentes et me donne à penser que c'est bien la localisation pulmonaire qui joue un rôle de premier ordre dans la précoïté et l'intensité de l'état allergique conféré par les bacilles morts.

*
**

Si je considère comme établi le fait qu'une lésion pulmonaire provoquée par une émulsion huileuse de bacilles tuberculeux morts produit un état allergique beaucoup plus précoce et nettement plus marqué qu'une lésion sous-cutanée due à la même émulsion huileuse, il n'en reste pas moins vrai que cette lésion sous-cutanée huileuse confère à l'animal un état allergique supérieur à celui que peut conférer une émulsion aqueuse de la même dose de bacilles morts.

Dans la plupart de mes expériences j'avais utilisé de l'huile d'olive neutre, je me suis demandé si une huile d'olive rance, plus irritante pour les tissus, ne serait pas susceptible de produire un état allergique plus précoce, ou plus marqué. J'ai voulu savoir également si une huile très différente de l'huile d'olive par ses propriétés, l'huile de ricin, se comporterait différemment, c'est pourquoi j'ai entrepris trois nouvelles expériences.

DIXIÈME EXPÉRIENCE. — Neuf cobayes reçoivent sous la peau, le 14 février 1936, une injection de 1 centigramme de bacilles tuberculeux morts (chauffage à l'autoclave, une demi-heure à 120°), émulsionnés dans 0 c. c. 5 d'huile d'olive neutralisée (6).

(6) Les échantillons d'huile utilisés au cours de cette expérience et des expériences suivantes m'ont été aimablement fournis par M. BERNIER, des Laboratoires Bruneau.

Ils sont tuberculinés ensuite régulièrement (intradermo-réactions avec une goutte de tuberculine brute au cinquantième) et voici, dans un bref tableau, l'ensemble des réactions tuberculiniques observées (7) :

	29 FÉVRIER 1936	9 MARS 1936	23 AVRIL 1936	23 MAI 1936	15 JUIN 1936	19 AOÛT 1936	24 OCTOBRE 1936	11 JANVIER 1937	3 MAI 1937
46	+								
7	+ + E	E	++ + + +	++ + +	++ + +	++ + +	+		
82			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
9			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
90			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
76			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
33			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
97			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			
8			++ + +	++ + +	++ + +	++ + +			

On peut au sujet de cette série faire quelques remarques.

Sur 9 animaux, 6 ont présenté dans les quatre mois qui ont suivi l'inoculation des réactions nécrotiques, mais 2 des 3 animaux qui n'ont jamais présenté des réactions de ce type étaient alors en très mauvais état ce qui rend le fait explicable.

Chez un seul animal (n° 8) les réactions nécrotiques ont persisté près de quatre mois. Chez les cinq autres elles n'ont persisté qu'un mois environ. Au bout de quinze mois, les trois animaux survivants présentaient encore une intradermo-réaction positive, faible dans 2 cas, moyenne dans un autre cas, intradermo-réaction positive facile à mettre en évidence avec une dose faible de tuberculine : solution au cinquantième.

Quant à la précocité de la réaction elle semble évidente puisque des réactions nécrotiques ont été observées vingt-trois jours après l'inoculation et que le seul animal de la série tuberculiné le quinzième jour après l'infection présentait une réaction faible mais nettement positive.

ONZIÈME EXPÉRIENCE. — Neuf cobayes reçoivent sous la peau, le 14 février 1936, une injection de 1 centigramme de bacilles tuberculeux morts (chauffage à l'autoclave une demi-heure à 120°), émulsionnés dans 0 c. c. 5 d'huile d'olive rance, contenant 7 gr. 33 d'acide oléique par litre.

(7) Les réactions faibles sont marquées + ; moyennes, ++ ; fortes, +++ ; nécrotiques, E.

Voici le résultat des intradermo-réactions pratiquées chez ces animaux (même technique que dans l'expérience précédente) :

			29 FÉVRIER 1936
100	+	+	
39			9 MARS 1936
99			
88			23 AVRIL 1936
17			
22			28 MAI 1936
96			
998			15 JUIN 1936
23			
			19 AOUT 1936
			24 OCTOBRE 1936
			4^e JANVIER 1937
			3 MAI 1937

Comme dans la série précédente, l'allergie s'est révélée précoce, au quinzième jour, chez les deux animaux chez qui fut pratiquée une intradermo-réaction. Des réactions nécrotiques ont été observées chez 7 animaux sur 9, un des deux animaux n'en ayant pas présenté étant cachectique et ayant succombé rapidement.

Les réactions nécrotiques ont persisté plus longtemps que dans la série précédente, mais au bout de quinze mois les réactions tuberculiniques étaient douteuses ou négatives (avec la tuberculine au cinquantième) chez 4 animaux sur 5 qui survivaient.

DOUZIÈME EXPÉRIENCE. — Sept cobayes reçoivent sous la peau, le 14 février 1936, une injection de 1 centigramme de bacilles tuberculeux morts (chauffage à l'autoclave une demi-heure à 120°), émulsionnés dans 0 c. c. 5 d'huile de ricin.

Voici le résultat des intradermo-réactions pratiquées chez ces animaux (même technique que dans les deux expériences précédentes) :

		29 FÉVRIER 1936
69 E.	+	
24 E.	++ + E E +	9 MARS 1936
54 E.	++ + + ?	
27 E.	++ + + +	23 AVRIL 1936
63 E.	++ + + +	28 MAI 1936
57 E.	++ + + + ?	
81 E.	E + + + +	15 JUIN 1936
	++ + + +	19 JUILLET 1936
	++ + + +	24 OCTOBRE 1936
	++ + + +	1er JANVIER 1937
	++ + + +	3 MAI 1937

Dans cette série les réactions ont été nettement moins précoce. A noter également la moindre tendance aux réactions nécrotiques et leur fugacité. Ces deux faits s'expliquant sans doute aisément : l'émulsion des bacilles dans l'huile de ricin, malgré un brassage prolongé dans le flacon à bille, s'étant révélée difficile à réaliser.

Chez les 3 animaux ayant survécu quinze mois, la réaction tuberculinique persistait, nette.

De ces trois dernières expériences on est en droit de conclure que les bacilles morts émulsionnés dans des huiles végétales diverses et injectés sous la peau des cobayes confèrent à ceux-ci une allergie précoce (8) et nette qui s'atténue lentement mais peut encore être mise en évidence chez la plupart des animaux au bout d'une année avec des solutions faibles de tuberculine. Cette allergie est plus précoce, plus marquée, plus durable que celle que confère aux animaux la même dose de bacilles émulsionnés dans l'eau physiologique.

III. — La résistance aux réinfections d'épreuve des lapins inoculés sous la peau ou dans la veine avec des bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive.

TREIZIÈME EXPÉRIENCE. — Dans une première expérience portant sur 20 lapins adultes j'ai fait trois lots : le 10 avril 1925, le premier lot (8 animaux) a reçu dans la veine 1 centigramme de bacilles tués (souche bovine Vallée) émulsionnés dans 2 cent. cubes d'huile. Le deuxième lot (6 animaux) a reçu la même quantité de la même émulsion en injection sous-cutanée ; le troisième lot (6 animaux) était le lot témoin et n'a reçu aucune injection avant l'infection virulente.

Deux mois après ces injections, le 10 juin 1925, les trois lots ont été éprouvés et ont reçu dans la veine 1/10.000 de milligramme de bovine Vallée (culture d'un mois). Voici le détail de l'expérience :

(8) Dans ces expériences, les réactions tuberculiniques ont semblé plus précoce que dans les expériences de M. SAENZ, qui, chez les cobayes sensibilisés avec des bacilles morts dans l'huile d'olive, n'a pas observé de réactions tuberculiniques positives avant le vingtième jour (SAENZ, *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 338).

PREMIER LOT. — Inoculation *intraveineuse* de bacilles morts émulsionnés dans l'huile le 10 avril 1925. Inoculation intraveineuse de bacilles virulents le 10 mai 1925.

Deux animaux, le 644 et le 646, sont morts deux jours et quatre jours après l'injection intraveineuse de bacilles morts émulsionnés dans l'huile ; ils sont morts de pasteurellose à forme pleurétique.

649. — Sacrifié en très bon état au bout de deux cent dix jours ; à l'autopsie, on constate un tubercule isolé de 5 millimètres de diamètre dans le lobe supérieur droit. Le reste du poumon est sain.

645. — Sacrifié en très bon état au bout de trois cent cinquante jours ; les poumons sont absolument sains, très souples ; on note cependant un petit piqueté anthracosique sur la face postérieure des deux bases.

643. — Sacrifié au bout de cent soixante-dix jours ; il présente à l'autopsie une tuberculose pulmonaire (gros nodule caséux) et rénale (une dizaine de tubercules sur les deux reins).

625. — Sacrifié au bout de deux cent dix jours ; à l'autopsie, on note une dizaine de gros tubercules pulmonaires. Reins sains.

586. — Sacrifié au bout de quatre cent cinquante jours ; les poumons ne sont le siège d'aucun tubercule ; il existe des taches anthracosiques aux deux bases, qui sont d'ailleurs fixées au diaphragme par une symphyse solide.

418. — Sacrifié au bout de deux cent quarante jours ; tuberculose pulmonaire très étendue bilatérale. Reins sains.

645 ter. — Mort au bout de cent quatre-vingt-quinze jours de tuberculose pulmonaire bilatérale confluente. Reins sains.

628. — Sacrifié en très bon état au bout de trois cent soixante-dix-sept jours. Poumons et reins absolument sains.

645 bis. — Sacrifié au bout de quatre cent cinquante jours ; poumons sains présentant des taches anthracosiques. Reins sains.

L'examen histologique des poumons et des reins a confirmé chaque fois les examens cliniques.

DEUXIÈME LOT. — Inoculation *sous-cutanée* de bacilles morts émulsionnés dans l'huile le 10 avril 1925. Inoculation intraveineuse de bacilles virulents le 10 mai 1925.

651. — Mort le cent quarante-troisième jour ; tuberculose pulmonaire bilatérale, le lobe supérieur droit et le lobe inférieur gauche étant entièrement caséux.

347 bis. — Mort au bout de cent quarante-cinq jours ; tuberculose généralisée des poumons et des reins.

544. — Mort au bout de deux cent cinq jours ; tuberculose généralisée des poumons et des reins.

648. — Mort le deux cent quinzième jour ; tuberculose généralisée des poumons et des reins.

648 bis. — Mort le deux cent quarantième jour ; tuberculose généralisée des poumons et des reins.

623. — Mort le deux cent soixante-dix-septième jour ; reins sains, tuberculose pulmonaire bilatérale à gros nodules.

TROISIÈME LOT. — Inoculation intraveineuse de bacilles virulents le 10 mai 1925.

653, mort le cent quarante-cinquième jour ; 654, le soixante-septième

jour ; 651, le cent quatorzième jour ; 652, le cent quatorzième jour ; 33 bis, le cent trentième jour ; 34 bis, le cent quarante-septième jour.

Tous ces animaux présentaient des lésions de tuberculose généralisée des poumons et des reins.

En résumé les 6 témoins ont vécu une moyenne de cent dix-neuf jours et sont tous morts de tuberculose généralisée à prédominance pulmonaire et rénale ; le premier est mort en soixante-sept jours, le dernier en cent quarante-sept jours ; les quatre autres sont morts entre cent dix et cent trente jours.

Les 6 animaux du deuxième lot ayant reçu l'injection sous-cutanée des bacilles morts émulsionnés dans l'huile avant l'injection des bacilles virulents, ont présenté une résistance très nette ; la moyenne de la survie à l'inoculation d'épreuve a été de deux cent quatre jours ; le premier est mort au bout de cent quarante-trois jours, le dernier au bout de deux cent soixante-dix-sept jours. Ils présentaient tous des lésions tuberculeuses confluentes pulmonaires et rénales.

Quant aux animaux du premier lot chez lesquels on avait produit deux mois avant l'inoculation d'épreuve une pneumonie tuberculeuse curable, 4 sont morts tuberculeux entre cent soixante-dix et deux cent quarante jours, les 4 autres sacrifiés en très bon état entre trois cent cinquante et quatre cent cinquante jours, ne présentaient aucune lésion tuberculeuse même à l'examen microscopique. On découvrait seulement à l'autopsie un petit piqueté anthracosique des bases. Dans cette expérience 50 p. 100 des animaux vaccinés par inoculation intraveineuse de bacilles émulsionnés dans l'huile d'olive ont donc présenté une résistance à l'infection tuberculeuse tout à fait exceptionnelle puisqu'elle persistait encore quatre cent cinquante jours après l'inoculation d'épreuve.

QUATORZIÈME EXPÉRIENCE. — Pour essayer de mieux mettre en évidence cette résistance avec infection d'épreuve, j'ai entrepris une deuxième expérience, l'inoculation virulente étant pratiquée sous la peau.

J'ai divisé mes animaux en 2 lots : le premier de 8 animaux, le deuxième de 6.

Le premier lot (8 animaux) avait reçu dans la veine, le 30 janvier 1928, 1/2 centigramme de bacilles tués par la

chaleur (souche A-Y) chauffés une heure et demie à 120° à l'autoclave et émulsionnés dans 1 cent. cube d'huile d'olive stérilisée.

Le 26 mars 1928, ces 8 animaux du premier lot et les 6 animaux du deuxième lot ont reçu sous la peau 6/10 de milligramme de bovine Vallée.

PREMIER LOT. — 1021, mort le 31 janvier 1928, vingt-quatre heures après la première inoculation.

1026 et 1027, morts de pasteurellose, quatre jours après la première inoculation.

Il ne restait plus que cinq animaux pour poursuivre l'expérience.

1022, sacrifié cent quatre-vingts jours après l'infection d'épreuve, sain.

1024, sacrifié cent quatre-vingt-dix jours après l'infection d'épreuve, sain.

1025, sacrifié deux cent quatre-vingt-dix jours après l'infection d'épreuve, sain.

1023, sacrifié trois cent cinquante jours après l'infection d'épreuve, sain.

1028, sacrifié trois cent cinquante jours après l'infection d'épreuve, il présentait une douzaine de tubercules de 3 à 4 millimètres de diamètre dans chaque poumon.

DEUXIÈME LOT (témoin). — 980, mort au bout de quatre-vingt-douze jours ; 981, au bout de quatre-vingts jours ; 982, au bout de soixante-dix-neuf jours ; 983, au bout de quatre-vingt-dix-sept jours ; 984, au bout de quatre-vingt-un jours ; 985, au bout de soixante-seize jours.

En résumé, la survie des témoins a été en moyenne de quatre-vingt-trois jours. Ils présentaient tous des lésions étendues des poumons et des reins ; au contraire, les 5 animaux vaccinés par émulsion huileuse intraveineuse ont été sacrifiés à des dates variables et seul l'un d'eux, sacrifié au bout de trois cent cinquante jours, présentait des lésions tuberculeuses.

Cette expérience confirmait donc la précédente.

QUINZIÈME EXPÉRIENCE. — Il m'a semblé préférable, dans une nouvelle expérience, d'éprouver les animaux vaccinés avec une souche notamment moins virulente que la bovine Vallée ; j'ai pensé, d'autre part, qu'il y aurait intérêt à laisser survivre les animaux pendant un temps considérablement plus long afin que l'immunité générale flétrissant, on puisse voir se produire des tuberculoses viscérales, le poumon vacciné demeurant intact.

Les animaux vaccinés l'ont été avec 1 centigramme de

bovine Vallée tuée par la chaleur (une heure et demie à l'autoclave à 120°), émulsionnée dans 2 cent. cubes d'huile. J'ai vacciné ainsi le 15 mars 1926, 10 animaux.

Deux sont morts trois ou quatre jours après de pasteurellose, les 8 autres ont survécu.

Ces 8 animaux ainsi que 17 témoins ont reçu dans la veine, le 15 mai 1926, 1/50 de milligramme de la souche A-Y (9).

PREMIER LOT. — Lot témoin non vacciné.

A 75 et A 76, morts de pasteurellose, quatre jours après l'inoculation.

A 67, mort de tuberculose pulmonaire généralisée, cent cinquante-deux jours après l'inoculation.

A 71, mort de tuberculose pulmonaire concluante, cent soixantequinze jours après l'inoculation.

A 66, mort de tuberculose pulmonaire et rénale, cent soixante jours après l'inoculation.

A 420, mort de tuberculose pulmonaire prédominante sur le poumon droit, cent quatre-vingt-dix jours après l'inoculation.

A 68, mort de tuberculose pulmonaire et rénale, cent quatre-vingtquinze jours après l'inoculation.

A 72, mort avec des lésions discrètes du poumon, deux cents jours après l'inoculation.

A 45, mort deux cent dix-neuf jours après l'inoculation, granulie pulmonaire à gros grains.

X 2, mort trois cent vingt jours après l'inoculation, de tuberculose pulmonaire et rénale.

X 3, mort trois cent trente-sept jours après l'inoculation avec des lésions caséuses très étendues localisées aux poumons.

A 73, mort cinq cent neuf jours après l'inoculation, de tuberculose pulmonaire et rénale.

A 74, mort de tuberculose pulmonaire cinq cent trente-deux jours après l'inoculation.

B 34, mort cinq cent trente-trois jours après l'inoculation, avec des lésions tuberculeuses caséuses très étendues des deux bases et des nodules tuberculeux sur les lobes supérieurs.

X 4, mort cent quatre-vingt-deux jours après l'inoculation, de tuberculose pulmonaire.

X 5, mort deux cent douze jours après l'inoculation, de tuberculose pulmonaire.

X 6, mort deux cent trente-cinq jours après l'inoculation, de tuberculose pulmonaire.

DEUXIÈME LOT (animaux vaccinés).

A 43, mort cent quatre-vingt-dix-huit jours après l'inoculation d'épreuve sans aucune lésion pulmonaire ou rénale.

(9) Souche très virulente qui m'a été donnée en 1922 par le Dr G. Kuss, et qui a été isolée sans passage par l'animal d'un pus de pyopneumothorax chez l'homme.

1040, mort trois cent quatre-vingt-cinq jours après l'inoculation d'épreuve, présentant des abcès multiples sous-cutanés ; le pus de ces abcès ne contenait pas de bacilles de Koch ; inoculé au cobaye, il n'a pas tuberculisé cet animal. Les poumons et les reins étaient sains.

A 40 bis, sacrifié cinq cents jours après l'infection d'épreuve, sain.

1039, sacrifié cinq cent huit jours après l'infection d'épreuve, sain.

A 43 bis, sacrifié cinq cent quinze jours après l'infection d'épreuve, sain.

1031, sacrifié huit cent quinze jours après l'infection d'épreuve, poumons sains présentant un petit piqueté anthracosique des bases ; *le rein droit n'est plus qu'un énorme abcès caséux rempli de pus tuberculeux* (tuberculisant le cobaye).

1030, sacrifié en bon état apparent huit cent vingt-cinq jours après l'inoculation d'épreuve : poumons sains, *importantes lésions de tuberculose intestinale*.

A 44, sacrifié huit cent cinquante jours après l'inoculation d'épreuve : *les deux testicules sont caséux* ; les poumons sont sains, présentant uniquement un petit piqueté anthracosique des bases.

Le contrôle histologique de l'intégrité des poumons a été pratiqué dans tous les cas au cours de ces trois expériences.

Dans cette dernière, les témoins ont survécu en moyenne deux cent soixante-dix-sept jours ; les animaux vaccinés par voie intraveineuse, exception faite de deux d'entre eux, A 43 et A 40, qui ne sont pas morts de tuberculose mais d'une maladie intercurrente, ont dû tous être sacrifiés en bonne santé apparente, et les trois derniers, le poumon étant absolument intact, présentaient cependant des tuberculoses viscérales.

SEIZIÈME EXPÉRIENCE. — Le 29 octobre 1937, trois lapins (15-17-18) reçoivent sous la peau une injection de 1 centigramme de bacilles tuberculeux tués par la chaleur, émulsionnés dans 0 c. c. 5 d'huile d'olivé.

Deux autres lapins (16-19) reçoivent dans la veine une même quantité de la même émulsion.

Le 24 novembre 1937, ces cinq lapins et un témoin neuf reçoivent dans la veine une émulsion de bacilles virulents (1 centigr. 2 par animal).

Le témoin ayant reçu sous la peau la même dose de bacilles morts émulsionnés dans l'eau physiologique, meurt le 12 mai 1938, cent soixante-huit jours après l'infection virulente. Il présente une tuberculose pulmonaire généralisée.

Un des lapins vaccinés sous la peau, le n° 17, meurt le 21 mai 1938 après une survie de cent soixant-dix-sept jours.

Les deux autres, le n° 15 et le n° 18, sont sacrifiés le 2 juin 1938 après une survie de cent quatre-vingt-neuf jours. Ils présentent tous les deux une tuberculose pulmonaire bilatérale, très avancée chez le n° 18, dont les poumons sont creusés de volumineuses cavernes, moins marquée chez le n° 15.

Des deux lapins vaccinés dans la veine, l'un, le n° 16, est mort le 25 avril 1938, après une survie de cent cinquante et un jours. Il présentait des lésions pulmonaires importantes, dues pour la plupart à la première inoculation de bacilles tuberculeux morts émulsionnés dans l'huile.

Quant au n° 19, sacrifié au bout de cent quatre-vingt-neuf jours, il présentait des poumons sains, exception faite d'un aspect grisâtre des Lases, bases d'ailleurs parfaitement souples, reliquat de la première inoculation intraveineuse de bacilles morts émulsionnés dans l'huile.

*
* *

Des expériences XIII, XIV, XV et XVI se dégagent diverses conclusions. Les lapins vaccinés sous la peau avec des bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive présentent une résistance aux infections d'épreuve plus nette que les animaux vaccinés avec la même dose de bacilles morts émulsionnés dans l'eau physiologique.

Mais cette vaccination est infiniment moins nette que celle qu'on obtient en injectant l'émulsion huileuse dans la veine et en déterminant ainsi une localisation pulmonaire des lésions. Avec ce mode d'inoculation, la résistance aux infections d'épreuve se montre vraiment tout à fait exceptionnelle, du moins chez un grand nombre d'animaux. Quelques-uns d'entre eux en effet, vaccinés par ce procédé, meurent assez rapidement après l'infection d'épreuve, mais il semble bien qu'il s'agisse des animaux chez qui l'inoculation première, vaccinante ait créé des lésions quasi irréparables. Dans le premier chapitre de cette étude, j'ai exposé l'aspect de ces lésions, on comprend que certaines d'entre elles soient d'une telle importance que l'animal, dont la chute de poids peut avoir été impressionnante, se trouve en état d'infériorité, lors de l'inoculation d'épreuve, vis-à-vis de ceux qui n'ont présenté que des lésions modérées à la suite de l'inoculation vaccinante.

IV. — La résistance aux infections d'épreuve
des cobayes ayant reçu quinze mois plus tôt
une injection sous-cutanée de bacilles morts
émulsionnés dans des huiles végétales diverses.

Au cours de recherches déjà longues sur la vaccination des animaux de laboratoire, par des bacilles morts enrobés dans la paraffine, j'ai été frappé de voir combien des vaccinations qui s'avèrent très importantes vis-à-vis des réinfections virulentes, sont en réalité, dans un grand nombre de cas, des vaccinations éphémères, tout au moins quand il s'agit de réinfections aux doses où nous les réalisons dans les laboratoires.

Une année après l'injection de bacilles morts émulsionnés dans la paraffine, un grand nombre des animaux ne présente plus, par rapport aux témoins, la moindre vaccination. C'est pourquoi il m'a semblé utile d'étudier la résistance aux infections d'épreuve des cobayes ayant reçu quinze mois plus tôt une injection de bacilles morts émulsionnés dans des huiles végétales diverses.

DIX-SEPTIÈME EXPÉRIENCE. — Le 14 février 1936, des cobayes reçoivent une injection, dans les muscles de la nuque, de 1 centigramme de bacilles morts émulsionnés dans :

L'huile d'olive neutralisée (cobayes n°s 76, 8, 16) ;

L'huile rance. — 7 gr. 33 d'acide oléique par litre — cobayes n°s 23, 98, 99, 22, 96) ;

L'huile de ricin (cobayes n°s 51 E et 81 E).

Le 7 mai 1937, ces animaux, ainsi que neuf témoins, reçoivent sous la peau une injection de bacilles tuberculeux (1/1.000 de milligramme d'une souche humaine virulente).

Les neuf témoins sont morts dans un délai variant de cent vingt à cent quatre-vingt-dix-neuf jours de tuberculose généralisée. Survie moyenne : cent soixante-cinq jours.

Les cobayes vaccinés avec une émulsion de bacilles morts dans l'huile d'olive neutralisée sont morts assez rapidement.

	DATE DE LA MORT	SURVIE à l'inoculation d'épreuve en jours
Cobaye 76	10 septembre 1937.	126
Cobaye 8	28 août 1937.	116
Cobaye 16	30 septembre 1937.	146

La survie moyenne est donc de cent vingt jours.

Les cobayes ayant reçu une première inoculation de bacilles morts émulsionnés dans l'huile rance ont présenté une survie manifeste.

	DATE DE LA MORT.	SURVIE à l'inoculation d'épreuve en jours
Cobaye 23	8 décembre 1937.	216
Cobaye 98	5 décembre 1937.	213
Cobaye 99	3 janvier 1938.	235
Cobaye 96	25 novembre 1937.	202

Survie moyenne, deux cent seize jours.

Les cobayes ayant reçu une première inoculation de bacilles morts émulsionnés dans l'huile de ricin ont présenté une survie plus importante encore.

	DATE DE LA MORT	SURVIE à l'inoculation d'épreuve en jours
Cobaye 51 E	16 décembre 1937.	243
Cobaye 84 E	9 février 1938.	298

Cette expérience qui primitivement devait porter sur 40 animaux, s'est comme il arrive souvent, considérablement trouvée réduite au cours de sa phase terminale, ce qui diminue singulièrement la portée des enseignements qu'on peut en tirer.

Toutefois, la régularité des résultats lui donne une autre valeur.

Les cobayes vaccinés avec des bacilles morts émulsionnés dans des huiles d'olive rances ont présenté une survie manifeste sur les animaux vaccinés avec une émulsion dans l'huile neutre.

Les cobayes vaccinés avec des bacilles morts émulsionnés dans l'huile de ricin ont présenté une survie plus marquée encore. A noter cependant que ces derniers animaux avaient présenté une allergie infiniment moins nette que les animaux vaccinés à l'huile d'olive neutre ou rance qui se sont montrés moins résistants aux infections d'épreuve.

Conclusions.

Les bacilles de Koch morts, émulsionnés dans les huiles végétales, injectés sous la peau ou dans le muscle des lapins et des cobayes, confèrent à ces animaux une allergie plus précoce, plus nette, plus durable, qu'une même dose de bacilles morts émulsionnés dans l'eau physiologique.

Il est incontestable cependant que cette allergie est moins marquée, moins durable, que celle qui est produite chez les animaux de laboratoire par une injection d'une même dose de bacilles morts enrobés dans la paraffine. J'ai insisté à diverses reprises sur l'importance et la persistance de l'état allergique réalisé par ce dernier procédé (10) et le fait a été confirmé et précisé par Saenz (11) en diverses publications.

Il est non moins incontestable d'ailleurs que les bacilles morts émulsionnés dans la lanoline et injectés dans la nuque des cobayes confèrent à ces animaux une allergie plus précoce (réaction nécrotique au quinzième jour) et plus marquée que les injections de bacilles morts émulsionnés dans les huiles végétales. Pour Saenz, « la lanoline n'a aucune influence sur le pouvoir allergique des bacilles morts » (12), mais cette affirmation a été contestée par Hensel (13) et des expériences en cours me permettent de confirmer les travaux de ce dernier auteur quant à l'intensité et à la précocité des réactions tuberculaires chez les animaux ayant reçu des injections sous-cutanées de bacilles morts émulsionnés dans la lanoline.

En somme, l'allergie obtenue en injectant *sous la peau* des animaux de laboratoire des bacilles morts émulsionnés dans l'huile d'olive neutre, l'huile d'olive rance, l'huile de ricin,

(10) COULAUD (E.). *Rev. de la tuberculose*, 1934, p. 850 ; *Ibid.*, 1935, p. 1181.

(11) SAENZ (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **120**, 1935, p. 870 ; *Ibid.*, **120**, 1935, p. 1050 ; *Ibid.*, **121**, 1936, p. 957 ; *Ibid.*, **121**, 1936, p. 1561 ; *Ibid.*, **122**, 1936, p. 911.

(12) SAENZ (A.). Degré d'allergie conféré au cobaye par l'inoculation de bacilles tuberculeux morts enrobés dans des excipients gras d'origine végétale ou animale. *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 338.

(13) HENSEL. *Beitrag zur Klinik T. b. K.*, avril 1936, p. 442.

s'avère moins précoce et moins marquée que celle qu'on obtient en utilisant des émulsions dans la lanoline et la paraffine, (paraffine solide ou huile de paraffine) mais il n'en est pas moins vrai que cette allergie est plus précoce, plus marquée, plus durable, que celle qu'on obtient avec la même dose de bacilles morts émulsionnés dans l'eau physiologique.

Qui plus est, si on parvient à créer avec les bacilles morts émulsionnés dans une huile végétale, *des lésions pulmonaires* (par injection intraveineuse par exemple), on constate que l'allergie obtenue devient très précoce, très marquée, et rappelle tout à fait celle qu'on obtient en utilisant des bacilles morts enrobés dans la paraffine.

Certes l'excipient doit en cette matière jouer un rôle important, mais la localisation de la lésion allergisante, en particulier la localisation pulmonaire, apparaît comme un facteur d'égale importance. Ce fait m'avait frappé dès 1923 (14). Noël Rist dans des recherches récentes (15), pour expliquer l'intensité de l'allergie obtenue avec des émulsions de bacilles morts dans la paraffine, invoque les migrations ganglionnaires et pulmonaires constantes de particules de paraffine bacillaire, migrations qu'il considère comme un facteur primordial. Ces recherches soulignent donc également l'importance de la localisation pulmonaire quand il s'agit de réaliser une allergie importante et durable en utilisant des bacilles morts.

*
* *

La résistance aux infections d'épreuve des animaux qui ont reçu *sous la peau* des bacilles émulsionnés dans l'huile d'olive est beaucoup plus nette que chez les animaux ayant reçu sous la peau une même dose de bacilles morts en émulsion dans l'eau physiologique.

(14) COULAUD (E.). Bacilles morts et réactions tuberculiniques. *C. R. Soc. de Biol.*, **89**, p. 1023. COULAUD (E.). Vaccinations locales du poumon à l'égard de l'infection tuberculeuse. *Revue de la Tuberculose*, **10**, n° 4, août 1929.

(15) RIST (N.). Lésions ganglionnaires et pulmonaires produites chez le cobaye par inoculation de bacilles tuberculeux morts enrobés dans la paraffine ou l'huile de vaseline. *C. R. Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 185.

Elle est beaucoup moindre que celle qu'on observe après injection sous-cutanée de bacilles morts enrobés dans la paraffine (16). Mais si l'huile d'olive chargée de bacilles morts est injectée *dans la veine* du lapin, la vaccination se montre, dans un très grand nombre de cas, aussi nette, peut-être même plus nette, que celle que déterminent les injections sous-cutanées de bacilles morts enrobés dans la paraffine. Je dis bien : « dans un très grand nombre de cas ». En effet, quand on utilise cette technique des injections intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans l'huile, les lésions pulmonaires réalisées sont parfois si importantes que certains animaux, gravement déchus de ce fait, ne présenteront plus qu'une résistance nulle aux infections d'épreuve. Les figures du chapitre I de ce mémoire où sont représentées ces lésions, expliqueront facilement la discordance apparente de certains résultats.

* * *

On peut se demander si la résistance vraiment extraordinaire de certains animaux ainsi vaccinés ne pourrait s'expliquer par d'autres raisons que celle de la création d'une immunité spécifique.

M. Maurice Nicolle, dans son mémoire classique sur la morve expérimentale du cobaye, fait allusion à des affections de chenil qui lui ont paru conférer aux animaux une résistance assez nette vis-à-vis de la morve.

N'ayant utilisé pour mes expériences, pendant une dizaine d'années, que des lapins élevés par moi-même, dans trois chenils différents, j'ai eu l'attention attirée, au cours de plusieurs expériences, par la manière différente dont se comportaient, vis-à-vis de l'infection virulente, les animaux élevés dans un chenil mal tenu et où la morbidité et la mortalité par endémies diverses étaient grandes. Or, ces animaux, à plusieurs reprises, m'ont paru présenter une résistance assez nette aux infections tuberculeuses expérimentales. L'injection intra-

(16) COULAUD (E.). Essais de vaccination du cobaye et du lapin contre la tuberculose avec des bacilles tuberculeux morts enrobés dans la paraffine solide. *Revue de la Tuberculose*, 5^e série, 1, n° 10, décembre 1936.

veineuse de bacilles morts en émulsion huileuse détermine chez le lapin des lésions graves. Mais souvent ces lésions sont mixtes. Celles qui sont produites par les embolies bacillaires huileuses voisinent dans le poumon avec des lésions de broncho-pneumonie banale dues vraisemblablement à des germes de sortie.

Ces lésions de broncho-pneumonie banale ne pourraient-elles, dans une certaine mesure, être rendues responsables de la résistance tout à fait remarquable de certains animaux aux surinfections tuberculeuses ?

Mais l'existence d'un état allergique également exceptionnel chez les sujets ayant présenté cette résistance, doit faire tomber cette objection, cet état allergique ne pouvant pas véritablement être attribué à une infection intercurrente.

On pourrait peut-être, pour expliquer ces faits, invoquer une sorte de vaccination locale des poumons produite par les lésions pneumoniques considérables que réalisent les injections intraveineuses de bacilles morts émulsionnés dans l'huile. Les lapins tuberculeux meurent habituellement par insuffisance respiratoire déterminée par la confluence de leurs lésions pulmonaires. Le seul fait d'assurer, vis-à-vis de la tuberculose, une certaine résistance à leurs poumons confirmerait donc à ces animaux une vaccination très importante. Mais, dans ce cas, la tuberculose devrait, respectant les poumons, produire régulièrement des lésions dans d'autres viscères. Si le fait se rencontre, il n'est cependant pas constant.

Est-il possible, d'après l'étude des lésions dues aux embolies pulmonaires d'huiles végétales chargées de bacilles morts, d'essayer d'expliquer l'allergie importante et la résistance exceptionnelle réalisée par ce procédé chez les animaux d'expérience ?

On note, il est vrai, des remaniements importants du tissu pulmonaire, qui se montre très modifié. Mais, en certains points, ce tissu apparaît à peu près normal et, cependant, ces zones apparaissent également résistantes aux réinfections tuberculeuses. On ne saurait donc invoquer ces lésions pour expliquer ces phénomènes.

Les proliférations bronchiques ne semblent pas non plus susceptibles de les expliquer, il semblerait plus logique d'inci-

miner les hyperplasies des nodules lymphoïdes juxta-bronchiques. L'hyperplasie de ces nodules, au milieu desquels des coupes nombreuses mettent souvent en évidence quelques cellules épithélioïdes, quelques cellules géantes, parfois chargées d'anthracose, semble persister presque indéfiniment.

Mais il ne s'agit là que d'une hypothèse qu'il nous a été impossible de vérifier jusqu'ici.

**IMMUNISATION
DES ANIMAUX DE LABORATOIRE ET DU MOUTON
CONTRE LE CHARBON
AU MOYEN DE SOUCHES NON CAPSULOGÈNES
MAIS OËDÉMATOGÈNES DE BACILLUS ANTHRACIS**

par N. STAMATIN.

*(Institut Pasteur de la Faculté de Médecine Vétérinaire
de Bucarest. Directeur : Al. VECIU.)*

Depuis la géniale découverte de Pasteur, la méthode de vaccination anticharbonneuse des animaux domestiques n'a pas changé. Du fait que les souches non pathogènes ne vaccinent pas ou vaccinent peu, que, d'autre part, l'immunisation par les agressines est d'application difficile et ne donne pas de meilleurs résultats, c'est la vaccination par les souches atténées qui a été universellement adoptée.

Sans rien changer au principe de la méthode établie par Pasteur, on a essayé de rendre plus efficaces les vaccins, soit en changeant la voie de l'introduction du virus atténué, voie intracutanée au lieu de sous-cutanée (Besredka), soit en ajoutant aux suspensions vaccinales différentes substances (Mazzuchi, Ramon et Staub).

Toutes ces tentatives montrent que la vaccination anti-charbonneuse comporte quelques inconvénients auxquels on cherche à remédier. Les souches qui ont servi à Pasteur pour la préparation des célèbres expériences de Pouilly étaient très actives : le premier vaccin tuait le cobaye, tandis que le deuxième vaccin tuait 50 p. 100 des moutons. La pratique a montré que des souches aussi virulentes ne doivent pas être employées, à cause des accidents qu'elles peuvent produire. Pour éviter cet inconvénient, on a essayé d'abaisser la virulence des vaccins. Ainsi Kraus propose d'utiliser, comme premier vaccin, une souche qui ne tue que la souris, et, comme

deuxième vaccin, un virus pathogène pour le cobaye, mais non pour le lapin. L'emploi de telles souches réduit certainement les accidents vaccinaux, mais le pourcentage des animaux qu'elles immunisent n'est pas toujours suffisamment élevé.

Actuellement, il semble qu'on ait renoncé partout à l'inoculation de virus très actifs. D'ailleurs, il n'y a pas toujours une étroite relation entre la virulence d'une souche et le degré de l'immunité qu'elle confère aux animaux (Bekker). On tend de plus en plus à employer des souches moins pathogènes associées à des substances diverses : saponine, lanoline, gélose. C'est ainsi que le vaccin gélosé de Ramon et Staub est préparé avec une souche qui ne tue jamais le lapin, mais qui se montre pathogène pour le cobaye à une dose assez faible.

En dépit de l'abaissement de la virulence des souches vaccinales, on peut observer des cas de mortalité, assez rares fort heureusement, après la vaccination, surtout chez le mouton, même quand elle est effectuée avec des souches qui ne sont pas pathogènes que pour le cobaye. Nous pensons que tant qu'on emploie comme vaccins des souches qui conservent tous leurs caractères et qui, par conséquent, sont capables de provoquer chez certains animaux très réceptifs une maladie qui ne se distingue pas de celle que provoquent les souches normales virulentes, les accidents dans la pratique des vaccinations sont inévitables. Pour cette raison, il nous semble que la question de la vaccination anticharbonneuse reste ouverte : le problème à résoudre étant de conférer l'immunité sans faire courir aux animaux le moindre risque.

En étudiant l'influence qu'exercent les humeurs de l'organisme animal sur la bactéridie, nous avons isolé, entre autres, une variante particulièrement intéressante du point de vue de l'immunité charbonneuse. En effet, cette souche inoculée aux animaux de laboratoire, par voie sous-cutanée, provoque un volumineux œdème, bien que les germes soient toujours dépourvus de capsule ; cet œdème se résorbe et la septicémie ne survient jamais. Etant données les relations qui existent entre l'œdème charbonneux et l'immunité, on pouvait prévoir que les animaux ayant présenté une telle réaction doivent ensuite faire preuve d'une certaine résistance spécifique. C'est ce que l'expérience nous a permis de confirmer.

I. — Méthode utilisée pour l'isolement de la variante non capsulogène mais œdémato-gène.

En 1931, nous avons remarqué qu'en cultivant des souches virulentes de *Bacillus anthracis*, dans le sang citraté ou défibriné de cheval, on obtient des variantes qui, sur gélose, donnent naissance à des colonies rondes, luisantes, contenant des bactéries entourées d'une capsule. Ces variantes mucogènes sont, en règle générale, très peu stables ; en les transplantant sur gélose, on obtient toujours, à côté des colonies luisantes, des colonies rugueuses. Si la variante mucogène est bien purifiée, alors ces dernières colonies contiennent des germes qui ne s'encapsulent ni dans les milieux favorables, ni dans l'organisme animal. Cependant, quelques-unes de ces souches, bien qu'elles soient non capsulogènes, peuvent provoquer un œdème chez la souris et le cobaye : *elles sont donc œdémato-gènes*.

Au cours de nos recherches, nous avons cultivé, dans du sang défibriné de cheval, un nombre assez important de souches de *B. anthracis*.

Les germes virulents peuvent former tôt ou tard, par culture dans ce milieu, une variante mucogène. Les souches non virulentes et qui ne s'encapsulent pas, même après de nombreux passages dans le sang, ne donnent pas naissance à une telle variante, ce qui montre la parfaite identité entre la capsule et le caractère muqueux.

Les souches de laboratoire, cultivées dans le sang, produisent assez vite la forme encapsulée sur la gélose, tandis que celles qui sont récemment isolées doivent être gardées assez long-temps dans ce milieu. Nous donnons ci-dessous quelques exemples :

a) La souche n° 1190 a été isolée en 1930 ; elle a été maintenue à la température du laboratoire sur les milieux habituels jusqu'en 1933, où elle fut ensemencée dans le sang. Le sixième jour de cette culture, on obtient des colonies mucogènes et des colonies rugueuses. Une colonie mucogène est repiquée de nouveau dans le sang. Nous avons effectué ainsi quatre passages en constatant que les colonies mucogènes ensemencées dans le sang donnent toujours naissance à deux sortes de colonies : les unes mucogènes, les autres rugueuses. En examinant cette dernière

sorte de colonies, nous avons constaté qu'elles contiennent des germes non capsulogènes et cédématogènes. Cette souche, que nous avons désignée par le n° 1190 R, a été utilisée dans nos expériences sur l'immunisation.

b) La souche n° 2694, isolée depuis sept jours d'une rate charbonneuse de bovidé et maintenue quinze heures à l'étuve, puis à la température du laboratoire, est ensemencée en sang défibriné de cheval. Dans ces conditions, nous avons obtenu une variante mucogène après quatre passages espacés de dix jours. La forme mucogène ainsi isolée a été purifiée par des passages sur gélose ; puis la culture a été laissée à la température du laboratoire pendant un mois. En transplantant, après ce délai, cette culture, nous avons obtenu des colonies mucogènes ainsi que des colonies rugueuses ; ces dernières ont constitué la variante cédématogène et acapsulogène n° 2694 R dont nous nous sommes servi dans nos expériences.

c) La souche n° 2694 (la même que dans l'expérience précédente), avant d'être ensemencée dans le sang a été cultivée sur gélose à 42°5, selon la méthode de Pasteur ; les tubes de gélose qui avaient été directement ensemencés avec la rate charbonneuse ont été portés sans délai à l'étuve, afin d'éviter la formation de spores. La souche a été ainsi cultivée pendant sept jours, puis elle a été ensemencée dans le sang. Elle nous a donné, cette fois, une variante mucogène après cinq jours d'étuve. La température dysgonique a facilité l'action du sang.

Comment apparaissent ces variantes mucogènes ? Il a été démontré par plusieurs chercheurs et, tout récemment, par W. Schaefer et Y. Takahashi, que dans une culture de bactéridie charbonneuse, surtout dans une vieille culture, on trouve des germes doués de caractères différents. L'espèce microbienne, dont nous parlons, a la capacité de donner naissance à des variantes. Il nous semble que c'est une de ces variantes qui se développe en dehors de l'influence du sang, mais qui peut être transformée par le sang en une forme dont la fonction capsulogène est particulièrement exagérée. C'est ainsi qu'on peut expliquer : 1^o le fait que les souches qui ont vieilli sur les milieux de culture habituels donnent plus vite une variante mucogène que celles qui sont ensemencées dans le sang immédiatement après l'isolement ; 2^o la constatation que toutes les variantes mucogènes ont presque la même virulence, qu'elles dérivent de souches très pathogènes ou de souches peu virulentes. En effet, ces souches, en règle générale, ne sont pas pathogènes pour le lapin ; elles tuent le cobaye à une dose assez élevée et quelquefois elles provoquent, chez cet animal, une maladie d'aspect clinique et anatomo-pathologique tout à fait particulier.

Les cobayes inoculés avec ces souches mucogènes font, au point de l'inoculation, un léger œdème qui, parfois, se résorbe vers le quatrième jour ; on peut supposer alors que l'animal est guéri ; mais, vers le douzième ou seizième jour, les cobayes meurent ; l'autopsie montre des lésions nécrotiques, des ulcères et des pétéchies sur la muqueuse de l'estomac et du cæcum ; dans le sang et les organes, on trouve des bactéries capsulées, généralement en petit nombre.

Les souches mucogènes peuvent perdre ce caractère. Par passage chez le cobaye et culture sur gélose, on peut obtenir des colonies rugueuses, contenant des germes capsulogènes ; par vieillissement sur la gélose, les germes mucogènes peuvent perdre définitivement et héréditairement ce caractère ; ils constituent alors des *variantes non capsulogènes* et quelquefois *œdématogènes*.

II. — Propriétés des souches non capsulogènes et œdématogènes.

Une fois isolées à l'état pur, les variantes œdématogènes conservent longtemps leurs caractères. Une de nos souches, isolée il y a cinq ans, n'a pas perdu, jusqu'à présent, le pouvoir de provoquer de l'œdème. Un retour à la forme virulente n'est pas à craindre : ni par passages chez la souris, ni par culture dans le sang de cheval, nous n'avons réussi à isoler, de ces souches, une variante capsulogène.

Lorsque la souche non capsulogène est inoculée à la souris, au cobaye et au lapin, à doses convenables, elle produit un œdème qui, chez la souris, aboutit souvent à la mort, tandis qu'il se résorbe chez les deux autres espèces et l'animal guérit complètement. Chez les cobayes, surtout lorsque l'œdème a atteint des dimensions assez grandes, la mort peut résulter d'infections secondaires. Chez le lapin la guérison est de règle.

Même à doses assez fortes, ces souches ne tuent pas toutes les souris inoculées. C'est ainsi que la variante n° 2694 R, en 1934, à la dose de 0 c. c. 2 d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures à 37°, tuait 7 souris sur 8 inoculées, respectivement après quatre jours (4 souris), cinq jours (1 souris) et six jours (2 souris). La souche n° 1190 R, toujours en 1934, inoculée de la même façon et à la même dose, tuait seulement 5

sur 8 souris infectées, une après deux jours, 2 après trois jours, une après quatre jours et enfin une après cinq jours.

En 1936, on inocula la variante n° 1190 R à 8 souris — culture en bouillon — : 2 souris à la dose de 0 c. c. 1, 4 à la dose de 0 c. c. 01 et 2 à la dose de 0 c. c. 001. Les 2 souris du premier lot ont présenté de l'œdème, une seule est morte après sept jours ; du deuxième lot, 3 sont mortes (2 après six jours et la troisième après sept jours) ; la quatrième a présenté de l'œdème, mais elle a guéri. Une seule souris du troisième lot a fait de l'œdème et a succombé après sept jours.

Chez les souris mortes, on trouve toujours un œdème qui, parfois, entoure comme un manchon le corps de l'animal ; cet œdème ne se distingue pas de celui produit par les souches virulentes. Par rapport au poids de l'animal, l'infiltration est énorme : c'est ainsi que nous avons recueilli d'une seule souris jusqu'à 8 gr. 5 de tissu œdémateux. Dans ce tissu, à l'examen microscopique, on trouve d'assez nombreuses bactéridies qui sont toujours dépourvues de capsule. L'aspect de ces germes peut être normal, cylindriforme, ou, ce qui n'est pas rare, fusiforme, comme *Clostridium chauvei* par exemple. La culture ne donne aucun germe étranger. A côté de la bactéridie charbonneuse, on rencontre quelquefois, surtout quand la peau est altérée et qu'une porte d'entrée s'est ainsi constituée, des microbes d'infection secondaire : staphylocoque, *B. coli*, etc. Les organes abdominaux et la masse gastro-intestinale sont refoulés dans la partie dorsale de la cavité péritonéale. La rate, le foie et les reins sont d'aspect et de volume normaux. D'ordinaire, on ne trouve pas de bactéridies dans le sang du cœur, ni dans les organes ; s'il en existe, elles sont très rares et, toujours, sans capsule. La réaction de précipitation d'Ascoli est très fortement positive avec l'œdème, très faiblement positive avec les organes : rate, foie. L'œdème ainsi que les organes ne contiennent pas d'antigène capsulaire. Nous avons fait la réaction avec deux sérum purement anticapsulaires : l'un nous a été aimablement remis par notre collègue W. Schaefer, l'autre a été préparé par nous-même par inoculations au lapin de la souche 1190 Sm.

Les germes des souches non capsulogènes présentent une assez grande résistance aux moyens de défense de l'orga-

nisme ; c'est ainsi que dans l'œdème qu'ils avaient formé chez le lapin, nous avons trouvé des germes vivants, même après neuf jours. Avec W. Schaefer, nous avons fait la même constatation en inoculant ces germes dans la cavité périto-néale du cobaye : tandis que les germes des souches non capsu-logènes et non œdématogènes disparaissent au bout de trois à quatre jours, la souche œdématogène n° 1190 R peut être cultivée de cette cavité même après neuf jours.

On a essayé d'exalter la virulence de la souche non capsu-logène n° 2694 R par passages chez la souris ; le résultat a été négatif ; il nous semble, même, que par ces passages le pouvoir de provoquer l'œdème est diminué.

En inoculant la souche n° 1190 R, par voie veineuse, au lapin, nous avons obtenu un sérum qui contient des anticorps somatiques mais pas d'anticorps capsulaires. Ce sérum protège les cobayes vis-à-vis d'une infection assez sévère (W. Schaefer et N. Stamatin).

Bail (1915), en chauffant pendant quatre heures à 48° une culture en bouillon de seize heures, d'une souche virulente, obtient, à côté de variantes qui s'encapsulent dans le sérum, d'autres qui ne s'encapsulent pas. Une de ces dernières, après 25 passages dans le sérum, provoquait de l'œdème chez la souris. Après la mort des souris inoculées, on trouve dans l'œdème des bactéridies sans capsules ; les organes internes ne présentent pas de lésions et ne contiennent pas de bactéridies. Bail a obtenu une deuxième variante œdématogène en chauffant à 44°-45° une culture dans du sérum de porc, d'abord pendant douze heures, puis pendant quatre heures. Cette nouvelle souche, après 3 passages dans le sérum, provoquait de l'œdème chez la souris et le cobaye. Après 5 passages chez la souris son activité avait tellement baissé qu'elle ne provoquait plus d'œdème chez cet animal.

Sterne (1937), réussit à isoler d'une souche de bactéridie, par culture sur gélose au-dessous d'une couche de bouillon, une variante mucogène ; celle-ci à son tour a produit, par dissociation, une forme rugueuse qui ne s'encapsule ni *in vivo* ni *in vitro*. Cette variante tue la souris, mais sans donner naissance à des bactéridies encapsulées ; elle confère une immunité assez solide au cobaye, relativement faible au mouton

et à la chèvre. L'auteur applique la méthode à d'autres souches atténuées ou non ; il obtient toujours des variantes Sm et R, mais ces dernières variantes ne sont pas toujours sans capsule ; lorsqu'elles sont non capsulogènes, elles sont aussi non oedématogènes ; les variantes perdent, simultanément, la capsule et la faculté de donner naissance à un oedème chez les animaux. Plus tard, Sterne obtint, par culture de *B. anthracis*, sur gélose-sérum en parties égales, dans une atmosphère de CO₂, des colonies mucogènes ; celles-ci, gardées dans les mêmes conditions, forment des prolongements latéraux d'aspect rugueux. Les germes de ces deux zones de la même colonie, étant transplantés sur le même milieu et les tubes ensemencés placés dans les mêmes conditions, donnent, respectivement, des colonies mucogènes et des colonies rugueuses. Ces dernières colonies peuvent contenir trois sortes de germes :

- 1° Des germes complètement avirulents ;
- 2° Des germes virulents ;
- 3° Des germes sans capsule mais oedématogènes.

Une de ces souches oedématogènes immunise solidement les moutons (XXIV D).

III. — Essais d'immunisation des animaux avec les souches oedématogènes.

Dans une série d'expériences nous avons étudié le pouvoir immunisant de nos souches. Au cours de nos essais, nous avons employé deux variantes oedématogènes qui nous ont paru particulièrement actives : les souches n°s 1190 R et 2694 R.

A. — RECHERCHES CHEZ LA SOURIS.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Trois lots de souris, deux de 8 et le troisième de 4, sont inoculés de la manière suivante : les souris du premier lot reçoivent 0 c. c. 2 de culture en bouillon à 37°, âgée de vingt-quatre heures, de la souche n° 2694 R ; celles du deuxième lot reçoivent, dans les mêmes conditions, la même dose de culture de la souche n° 1190 R. Les souris du troisième lot sont inoculées avec une culture en bouillon d'une souche acapsulogène et non oedématogène à la dose de 0 c. c. 2.

Les souris inoculées avec les souches oedématogènes ont présenté des réactions locales, tandis que celles du troisième lot n'ont réagi daucune

façon. Du premier lot, 7 souris sont mortes et du deuxième, 5, toutes avec des œdèmes très étendus. Trois semaines plus tard, les 8 souris vaccinées, ainsi que 4 témoins, sont éprouvés avec 0 c. c. 5 d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures d'une souche atténuée du *B. anthracis*, qui tue le cobaye à la dose de 0 c. c. 2. Les témoins sont morts après trois (1 souris) et quatre jours. Les souris qui avaient été vaccinées avec les souches œdémato-gènes ont parfaitement résisté, tandis que celles qui avaient reçu la souche complètement inactive ont succombé à l'inoculation d'épreuve, trois (2 souris), quatre et cinq jours plus tard. Les souris qui avaient résisté ont été inoculées avec 0 c. c. 1 et 0 c. c. 4 d'une culture en bouillon de la même souche d'épreuve : elles ont survécu, mais toutes ont succombé lors de l'inoculation de 57 germes virulents.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Trois lots de 10 souris sont inoculées comme il suit : les souris du premier lot reçoivent trois injections, à trois jours d'intervalle, respectivement à la dose de 0,2, 0,4 et 0 c. c. 8 d'une suspension de tissu œdémateux de souris mortes à la suite de l'inoculation d'une souche atténuée, mais encapsulée de bactéridie. Le tissu œdémateux de ces souris est finement broyé et dilué dans l'eau physiologique formolée à 4 p. 100 dans la proportion de 1 p. 10. Les souris du deuxième lot sont injectées de la même façon, mais avec un tissu œdémateux provenant des souris inoculées avec la souche 1190 R, non encapsulée. Les souris du troisième lot ont reçu, par voie sous-cutanée, 0 c. c. 01 d'une culture de vingt-quatre heures en bouillon de la souche 1190 R.

Du premier lot, 1 souris est morte d'une infection intercurrente ; du troisième lot, 7 souris sont mortes avec de grands œdèmes.

Les animaux ainsi vaccinés furent éprouvés avec la même souche que ceux de l'expérience précédente ; chaque souris reçut 0 c. c. 05 d'une culture en bouillon à 37°, de vingt-quatre heures : du premier lot, 4 souris ont résisté ; du deuxième, 3 ont résisté, 1 est morte d'infection intercurrente et 6 du charbon ; sur 3 souris du troisième lot, 1 est morte et 2 ont résisté. Les 3 témoins ont succombé au charbon.

Il résulte de ces deux expériences que les souches œdémato-gènes confèrent un certain degré d'immunité aux souris ; que cette résistance dépasse celle qui s'installe à la suite de l'inoculation de tissu œdémateux formolé ; que les bacilles non capsulogènes et non œdémato-gènes n'immunisent pas les souris.

B. — RECHERCHES CHEZ LE COBAYE (1).

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Le 26 mars, on inocule 5 cobayes pesant de 320 à 420 grammes avec 0 c. c. 1 d'une culture en bouillon à 37° de

(1) Les expériences sur les cobayes ont été effectuées en collaboration avec MM. Al. Vechiu, I. Isopescu et M^{le} Radulescu.

vingt-quatre heures de la souche n° 1190 R. 3 cobayes, sur 5 inoculés, ont présenté, dans les jours suivants, au lieu de l'inoculation, un œdème gélatineux qui a augmenté de volume jusqu'au sixième jour et s'est résorbé ensuite ; les 2 autres cobayes n'ont rien présenté. Vingt-quatre jours plus tard, les animaux ont été éprouvés avec une souche de bactéridie atténuée (P H F) ; chaque cobaye a reçu dix doses minima mortelles. Les 2 témoins, qui ont reçu une seule dose mortelle, sont morts cinq et six jours plus tard ; les 2 cobayes, qui n'ont pas eu d'œdème lors de la vaccination, ont succombé trois jours après les témoins, tandis que ceux qui ont fait de l'œdème à la suite de l'inoculation de la souche 1190 R ont parfaitement résisté.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — 20 cobayes dont le poids varie de 380 à 490 grammes sont inoculés, par voie sous-cutanée, avec 0 c. c. 5 de culture en bouillon à 37° de seize heures de la souche n° 1190 R. Chez tous les animaux se sont formés des œdèmes ayant des dimensions allant de 2-1 centimètres jusqu'à 10-4 centimètres. 1 cobaye succomba à une infection intercurrente. Les 19 cobayes ainsi vaccinés ont reçu, trois semaines plus tard, dix doses mortelles d'une souche atténuée de bactéridie. Cette souche ne tue pas le lapin, mais tue régulièrement le cobaye à la dose de 0 c. c. 01 d'une culture en bouillon à 37° de vingt-quatre heures. C'est ainsi que les animaux vaccinés ont reçu 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 10 cent. cubes, tandis que 2 témoins ont reçu 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 100 cent. cubes. Les cobayes qui ont présenté, à la suite de l'inoculation de la culture vaccinante, un large œdème, n'ont réagi daucune façon à l'infection d'épreuve ; ceux qui ont eu un léger œdème lors de la vaccination ont fait cette fois un faible œdème ; mais pendant que chez les témoins l'œdème ne cessait de progresser et que la mort est survenue quatre jours plus tard, chez les cobayes vaccinés, l'œdème s'est résorbé, sauf chez 1 qui est mort d'infection charbonneuse.

Les souches œdémogènes, comme il résulte des expériences ci-dessus, confèrent aux cobayes une immunité manifeste. Il existe une relation étroite entre l'œdème et l'immunité. Les animaux qui, à la suite de l'inoculation de la culture vaccinante, réagissent par la formation d'un vaste œdème résistent mieux que ceux qui n'ont pas fait ou ont fait un très léger œdème.

C. — RECHERCHES CHEZ LE LAPIN.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — 6 lapins sont inoculés avec une suspension de bacilles acapsulogènes — souche n° 1190 R — préparée de la manière suivante : une culture sur gélose de vingt-quatre heures est lavée avec 8 cent. cubes d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures. De cette suspension, les lapins reçoivent chacun 2, 3 et 5 cent. cubes respectivement les 22 janvier, 29 janvier et 3 février. Des œdèmes se développent au lieu de l'inoculation. Par culture, nous avons trouvé

des bactéries dans ces œdèmes jusqu'au septième jour. Ces lapins furent éprouvés par inoculation d'une souche virulente de *B. anthracis*, qui tue régulièrement le lapin à la dose de 0 c. c. 001 d'une culture en bouillon à 37° de vingt-quatre heures. C'est ainsi que, le 13 février, nous inoculons les 6 lapins vaccinés, ainsi que 2 témoins, avec 0 c. c. 001 d'une culture en bouillon. Les 2 témoins sont morts respectivement soixante et soixante-douze heures plus tard. 1 lapin vacciné a succombé à l'infection charbonneuse après quatre-vingt-quatre heures ; les 5 autres lapins ont résisté.

Le 21 février les animaux qui ont survécu à l'épreuve sont inoculés avec 0 c. c. 004 d'une culture en bouillon de la même souche ; ils résistent. Le 2 mars nos lapins reçoivent 100 doses mortelles (0 c. c. 1 d'une culture préparée de la même façon). Un lapin est mort dix jours après cette épreuve mais on ne trouve pas chez lui de charbon. Le 12 mars, les 4 lapins qui ont résisté sont inoculés avec 500 doses mortelles ; 3 lapins résistent ; 1 succombe à l'infection charbonneuse. Le 23 mars, nous inoculons les 3 lapins avec 1.000 doses mortelles (1 cent. cube d'une culture en bouillon) ; 2 témoins sont inoculés avec 0 c. c. 002 et 2 autres avec 0 c. c. 001. Les 2 premiers témoins sont morts respectivement quarante et soixante-six heures plus tard, ceux qui ont reçu 0 c. c. 001 succombent à l'infection charbonneuse soixante-six heures plus tard, tandis que les lapins vaccinés et inoculés avec 1.000 doses mortelles ont résisté.

Dans une autre série d'expériences nous nous sommes occupé du pouvoir immunisant des souches mucogènes. La résistance conférée par ces germes qui sont entourés d'une capsule même sur la gélose n'est pas supérieure à celle qui s'établit à la suite de l'inoculation des bacilles non capsulés mais œdématogènes.

3 lapins reçoivent, par voie intradermique, à trois jours d'intervalle, respectivement 0 c. c. 2 et 0 c. c. 5 d'une suspension d'une culture sur gélose de la souche mucogène n° 2694 Sm. Une culture sur gélose de vingt-quatre heures, est lavée avec 5 cent. cubes d'eau physiologique. 3 lapins d'un deuxième lot reçoivent le même antigène, aux mêmes doses, mais par voie sous-cutanée. L'immunité de ces animaux a été éprouvée avec une souche virulente. Chaque lapin a reçu une seule dose minima mortelle. Du premier lot ont résisté 2 lapins, du deuxième lot 1 seul a survécu à l'infection.

Voici maintenant les résultats d'une autre expérience dans laquelle nous avons employé, comparativement, l'antigène mucogène et l'antigène œdématogène. La suspension inoculée était constituée, dans les 2 cas, par une culture de vingt-quatre heures sur gélose lavée avec 5 cent. cubes de bouillon (tableau I).

TABLEAU I.

NOMBRES des lapins	POIDS en grammes	SOUCHE inoculée	VOIE de l'inoculation	1 ^{re} VACCINATION			2 ^e VACCINATION			RÉSULTAT		
180	2.200	2694 Sm	Intradermique	0,2+								
184	2.300	2694 Sm	Intradermique	0,2	0,5	0,0005	Survie.	0,001		Survie.		
181	2.280	2694 Sm	Sous-cutanée.	0,2	0,5	0,0005	Survie.	0,001		++		
185	4.910	2694 Sm	Sous-cutanée.	0,2	0,5	0,0005	Survie.	0,001	+ 84 h.			
186	1.960	2694 R	Sous-cutanée.	1	2,5	0,0005	Survie.	0,001		Survie.		
187	1.750	2694 R	Sous-cutanée.	1	2,5	0,0005	Survie.	0,001	+ 60 h.	Survie.		
194	1.735											
174	2.100											

+, le lapin est mort, six jours plus tard, de charbon; ++, le lapin est mort cent-vingt heures après l'infection; à l'autopsie on a trouvé le Bacille du charbon ainsi que des Pasteurelles; chez les autres lapins morts on n'a trouvé que la Bactéridie charbonneuse.

Preisz en inoculant aux animaux de laboratoire, parallèlement, des souches capsulogènes et des souches non capsulogènes, observe que les premières provoquent de l'œdème, tandis que les dernières n'en donnent pas. De cette constatation, il conclut qu'il existe une étroite relation entre la capsule et l'œdème. Lorsque la question de l'immunisation par les aggressines a été débattue, on a rapproché également ces substances immunisantes et la capsule. A ce point de vue, il était intéressant de voir si les œdèmes qui sont provoqués chez la souris par les souches sans capsules ne possèdent pas le même pouvoir immunisant que les œdèmes qui apparaissent à la suite de l'inoculation de germes capsulés. Dans ce sens, nous avons fait avec M^{me} Stamatin, quelques expériences qui nous ont démontré que les œdèmes provoqués chez la souris par les souches qui ne s'encapsulent pas confèrent une résistance importante aux lapins vis-à-vis d'une infection charbonneuse.

Les œdèmes provoqués chez la souris avec nos souches sont soigneusement récoltés, broyés au sable, et dilués à 1 p. 10 avec de l'eau physiologique formolée à 4 p. 1.000. Les suspensions du tissu ainsi obtenues sont maintenues à l'étuve pendant trois jours et conservées à la glacière. Dans le tableau II on peut voir la marche de la vaccination et les résultats obtenus sur un lot de lapins.

TABLEAU II.

NUMÉROS des lapins	POIDS en grammes	1 ^{re} VACCINATION 14 septembre en cent. cubes	2 ^e VACCINATION 20 septembre en cent. cubes	3 ^e VACCINATION 26 septembre en cent. cubes	1 ^{re} INFECTION 8 octobre	RÉSULTAT	DERNIÈRE INFECTION 12 novembre	RÉSULTAT
10	4.970	10	10	10	0,004	Survie.	0,5	Survie.
79	1.735	10	10	10	0,001	Survie.	0,5	Survie.
80	1.635	10	10	10	0,001	Survie.		
199	2.530				0,0005	+ 70 h.		
6	1.630						0,0005	+ 84 h.

Entre la première et la dernière infection, nos lapins ont été inoculés les 18 et 27 octobre et le 1^{er} novembre, respectivement avec 4, 20, 100 et 200 doses minima mortelles de bactéridie. Le lapin n° 80 est mort à la suite de l'inoculation de 4 doses mortelles.

De toutes ces expériences, il résulte que le lapin peut être solidement immunisé avec des souches non capsulogènes et oedemato-gènes ;

Que, dans les mêmes conditions la résistance conférée par ces souches est supérieure à celle produite par une variante mucogène ;

Que l'oedème provoqué par les souches non capsulées immunise d'une façon satisfaisante le lapin.

D. — RECHERCHES CHEZ LE MOUTON.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — 8 moutons neufs, âgés les 6 premiers de sept à huit mois et, les 2 derniers, de dix-huit mois, ont été inoculés par voie sous-cutanée, le 18 et le 24 novembre, respectivement avec 1 cent. cube et 5 cent. cubes d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures de la souche oedemato-gène n° 1190 R. Après l'inoculation les moutons ont présenté une élévation thermique accusée, et, comme réaction locale, un oedème diffus qui s'est résorbé assez vite. Les moutons ainsi vaccinés ont été éprouvés avec une souche très pathogène, qui tue le lapin à la dose de 1 p. 20.000 d'une culture en bouillon à 37° âgée de vingt-quatre heures (2).

(2) Nous avons fait d'autres expériences avec cette souche et nous avons constaté qu'elle est hautement pathogène pour les chevaux et même pour les bovidés lesquels, d'après Nocard, sont réfractaires au charbon expérimental.

Dans ces conditions, l'épreuve de nos moutons a été particulièrement sévère ; ils ont tous parfaitement résisté (tableau III), bien qu'ils aient reçu cinq fois la dose qui a tué le témoin en soixante heures. La figure n° 1 représente la courbe thermique moyenne des 8 moutons après l'épreuve.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Nous avons utilisé trois lots, de 3 moutons neufs. Tous les animaux étaient âgés de huit à neuf mois.

Les moutons du premier lot ont reçu, par voie sous-cutanée, 1 cent. cube d'une culture en bouillon à l'étuve de vingt heures, de la souche cédématogène n° 1190 R ; ceux du deuxième lot ont reçu, par la même voie, 1 cent. cube d'une culture en bouillon à 37° de vingt heures

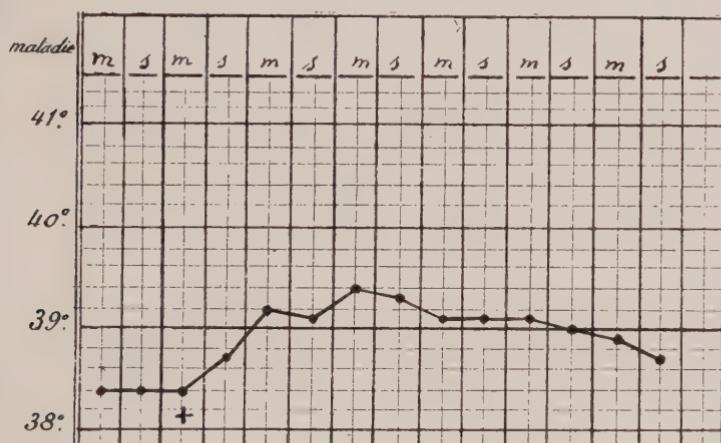


FIG. 1. — +, infection d'épreuve.

d'une souche atténuee de bactéridie charbonneuse ; celle-ci tue le cobaye mais non le lapin ; chez le premier elle produit un charbon typique. Les moutons du troisième lot ont reçu, toujours par voie sous-cutanée, à la dose de 0 c. c. 25 un antigène préparé de la manière suivante : une culture sur gélose, d'une souche atténuee de *B. anthracis* de quatre jours à l'étuve, est lavée avec 9 cent. cubes d'eau physiologique ; à la suspension ainsi obtenue on ajoute 1 cent. cube d'une dilution à 2 p. 100 de gélose. La souche utilisée pour la préparation de cet antigène gélosé (Ramon et Staub) est très sporogène ; en ce qui concerne la virulence, elle ne tue jamais le cobaye, mais elle tue la souris à la dose de 1 p. 10.000 d'une culture en bouillon.

Les moutons ainsi vaccinés ont tous présenté une réaction thermique ; les réactions locales ont été peu importantes.

2 des 3 moutons inoculés avec l'antigène gélosé ont présenté un petit nodule ; un du premier lot — souche cédéma-

togène — a fait un petit œdème au lieu de l'inoculation. Il nous semble que la fièvre est un indicateur plus sûr que la réaction locale ; elle permet de mieux apprécier le degré de l'immunité installée à la suite d'une inoculation vaccinante. Nous donnons dans la figure 2 la courbe thermique moyenne pour chaque lot de moutons.

Les moutons ont été éprouvés avec la même souche virulente que ceux de la première expérience. Chaque mouton vacciné,

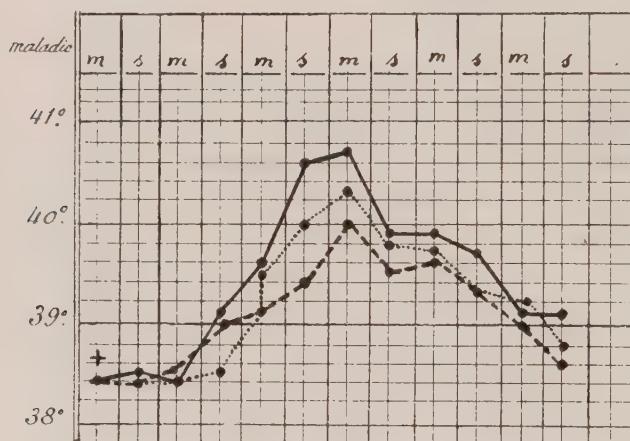


FIG. 2. — +, vaccination; —, souche œdémato-gène; - - -, antigène gélosé, souche pathogène seulement pour la souris; - - - - , souche atténuee.

ainsi qu'un témoin, a reçu 0 c. c. 002 d'une culture en bouillon à 37° de vingt-quatre heures. Le témoin ainsi qu'un mouton

TABLEAU III.

NUMÉROS des moutons	POIDS en kilogrammes	1 ^{re} VACCINATION 18 novembre en cent. cubes	2 ^e VACCINATION 24 novembre en cent. cubes	INFECTION 18 décembre	RÉSULTAT
62.	25	1	5	0,005	Survie.
63.	30	1	5	0,005	Survie.
64.	30	1	5	0,005	Survie.
65.	26	1	5	0,008	Survie.
66.	25	1	5	0,005	Survie.
67.	25	1	5	0,005	Survie.
68.	24	1	5	0,005	Survie.
70.	25	1	5	0,005	Survie.
71.	25			0,001 + 60 h.	

vacciné avec l'antigène gélosé sont morts soixante heures après l'épreuve. Un autre mouton, inoculé, lui aussi, avec le vaccin gélosé est mort cent quatre-vingts heures après l'infection ; les autres ont résisté. Comme le montre la figure 2, les animaux du troisième lot n'ont pas eu une fièvre très élevée à la suite de l'inoculation de l'antigène gélosé ; c'est de ce lot, précisément, que, sur 3 moutons, 2 n'ont pas été immunisés. Les moutons des deux autres lots, qui ont présenté de la fièvre, ont été immunisés. Cette expérience met en

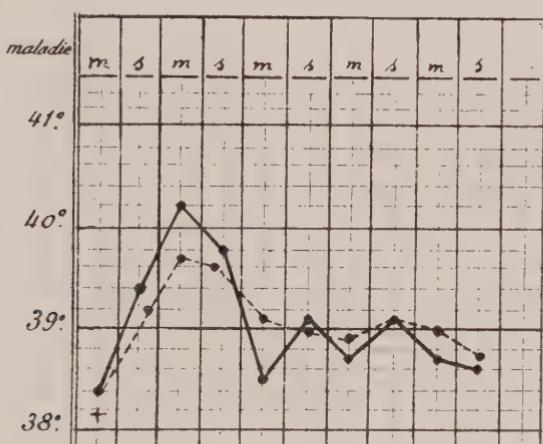


FIG. 3. — +, vaccination; —, souche oedématogène; - - -, antigène gélosé, souche Ramon et Staub.

évidence le pouvoir antigénique de la souche oedématogène : bien qu'elle soit peu pathogène elle provoque, chez le mouton, une forte fièvre ; 1 des 3 moutons a dépassé 41° et pendant trois jours sa température a dépassé 40°. A la suite d'une telle réaction on ne peut s'étonner que les animaux ayant reçu ce vaccin soient très résistants vis-à-vis d'une infection charbonneuse.

Le fait que les moutons qui ont reçu l'antigène gélosé n'ont pas résisté à l'infection d'épreuve s'explique par le faible pouvoir pathogène de la souche utilisée. En effet, cette souche ne tue que la souris ; elle est incapable de provoquer de l'oedème chez le cobaye, même quand elle est inoculée à des

doses assez fortes ; elle tue la souris chez laquelle on trouve des bactéridies encapsulées, mais ayant perdu la faculté de provoquer un œdème, elle a perdu aussi son pouvoir immunisant. Bien que nous l'ayons employée dans des conditions très avantageuses — car Ramon et Staub ont obtenu, avec l'antigène gélosé, des résultats excellents — néanmoins la résistance que cette souche a pu conférer aux moutons était minime.

A la suite de la publication de la note concernant les résultats de la dernière expérience, MM. Ramon et Staub ont mis à la disposition de l'Institut Pasteur de Bucarest quelques ampoules de vaccin gélosé préparé par eux-mêmes. Nous avons inoculé, avec ce vaccin, 6 moutons à la dose de 0 c. c. 25 ; un autre lot de 6 moutons a été inoculé avec la souche oedématogène n° 1190 R. Nous n'avons pu éprouver l'immunité des animaux de ces deux lots, mais nous croyons intéressant de donner la courbe thermique moyenne des deux premiers lots à la suite de l'inoculation vaccinante (fig. 3). Cette fois la courbe thermique, même pour la souche oedématogène, a été moins élevée, ce qui est dû, peut-être, au fait que les moutons étaient plus âgés (deux ans).

Nous avons isolé, des ampoules que les auteurs nous ont aimablement envoyées, la souche du vaccin ; celle-ci était pathogène pour le cobaye de 400 grammes, à la dose de 0 c. c. 01 d'une culture en bouillon à l'étuve de vingt-quatre heures ; à cette dose tous les cobayes inoculés font de grands œdèmes et succombent à une infection charbonneuse typique.

Avec Al. Vechiu, I. Isopescu, M^{me} Radulescu, nous avons fait une série d'expériences sur les moutons et constaté que l'antigène gélosé, préparé dans les mêmes conditions que dans la deuxième expérience, mais en partant de la souche Ramon et Staub, donne des résultats pleinement satisfaisants. Nous résumons ci-dessous une de ces expériences.

Nous avons utilisé trois lots de moutons, les deux premiers de 3 moutons et le troisième de 2 moutons seulement. Les animaux du premier lot ont reçu, par voie sous-cutanée, 2 c. c. 5 d'une culture en bouillon de la souche oedématogène n° 1190 R ; ceux du deuxième lot ont reçu, par la même voie, l'antigène gélosé à la dose de 0 c. c. 5 (20 millions de germes) ; quant aux moutons du dernier lot, ils ont été inoculés, à la dose de 2 cent. cubes, toujours par voie sous-cutanée, avec une

suspension de germes encapsulés. Ce dernier antigène consistait en une suspension d'une culture bien mucogène sur gélose — ne contenant que des bacilles encapsulés à l'examen des frottis — de la souche n° 1190 Sm dans 10 cent. cubes d'eau physiologique. Tous les animaux ont présenté des réactions locales ainsi que de fortes réactions thermiques. La figure 4 représente la courbe thermique moyenne pour chaque lot de moutons après la vaccination ainsi qu'après l'infection d'épreuve. L'antigène gélosé a provoqué la fièvre la plus élevée, ce qui est dû, peut-être, au nombre trop élevé de germes inoculés.

Les moutons ainsi vaccinés ont été éprouvés vingt-quatre jours plus tard avec la souche virulente employée dans les précédentes expériences, mais la dose a varié d'un mouton à l'autre. C'est ainsi que le premier mouton de chaque lot ainsi qu'un témoin ont reçu 0 c. c. 02 d'une

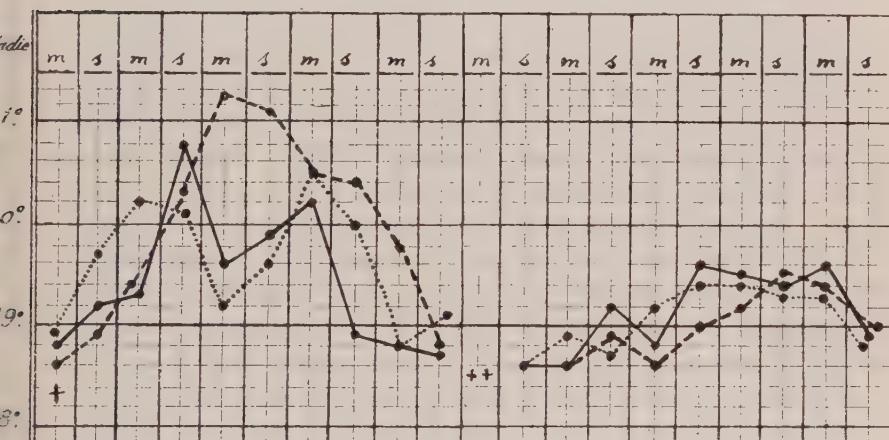


FIG. 4. — +, vaccination; ++, infection d'épreuve; —, souche œdème-génogène; - - -, antigène gélosé, souche Ramon et Staub; —, souche mucogène.

culture en bouillon ; le deuxième mouton de chaque lot a reçu 0 c. c. 04 et le troisième mouton du premier et du deuxième lot 0 c. c. 08 de la même culture. Le mouton témoin est mort quarante-six heures plus tard : tous les autres animaux ont résisté sauf 1 du deuxième lot qui est mort le cinquième jour d'une maladie parasitaire. L'examen microscopique et les ensemencements ont été négatifs pour le charbon.

Des expériences que nous venons d'exposer résulte que les moutons peuvent être solidement immunisés contre le charbon par des souches qui ne s'encapsulent pas mais qui conservent le pouvoir de provoquer un œdème chez les animaux de laboratoire. La résistance que ces souches confèrent

est, à tout point de vue, comparable à celle que confèrent le vaccin gélosé de Ramon et Staub et, en général, les souches capsulogènes.

Discussion.

Dans le développement de l'infection charbonneuse expérimentale des animaux de laboratoire, on peut distinguer deux périodes : la première est marquée par l'apparition, au point de l'inoculation, d'un œdème ; la deuxième par la pénétration des germes dans le sang. Ces deux phases de l'évolution de la maladie correspondent à deux propriétés bacillaires bien caractéristiques : la propriété œdématogène et la propriété capsulogène. Dans le développement du charbon, ces deux propriétés se complètent : l'une n'est presque rien sans l'autre.

Dans les souches de *B. anthracis* récemment isolées, ces deux propriétés se manifestent d'une façon égale, avec la même intensité ; mais parmi les cultures atténuées, on peut rencontrer des souches chez lesquelles l'une ou l'autre prédomine : tantôt la fonction œdématogène, tantôt la fonction capsulogène. Nous avons eu l'occasion de nous occuper de 2 souches qui illustrent cette conception. La première tuait seulement la souris et le cobaye ; inoculée à ces animaux elle produisait toujours un volumineux œdème qui progressait assez lentement et finissait par tuer toutes les souris, mais non tous les cobayes. Chez une partie de ces derniers, 3 sur 10, l'œdème commençait à diminuer vers le huitième jour et les animaux survivaient. Dans les organes de ceux qui succombaient à l'infection, le nombre des bactéries était assez réduit, et la capsule était mince ou faisait défaut.

La deuxième souche se comporte d'une manière tout à fait différente : inoculée aux souris, même à dose très faible, elle les tue sans jamais provoquer la formation d'œdème au point d'inoculation, tandis que les organes contiennent une assez grande abondance de bactéries bien encapsulées. La même souche inoculée au cobaye, même à dose très forte, ne produit pas d'œdème et ne tue pas. Ajoutons que la dose minima mortelle pour la souris est de 0 c. c. 05 pour la première souche et de 0 c. c. 0001 pour la deuxième.

Il existe donc des souches qui provoquent de l'œdème mais

leur pouvoir capsulogène étant très faible, la pénétration des germes dans le sang est assez difficile, et l'animal inoculé ne succombe qu'après une longue période préparatoire. Pour d'autres souches cette période préparatoire fait totalement défaut. Même, si elles sont encapsulées et qu'elles peuvent provoquer une septicémie chez la souris, animal très sensible à ce germe, elles sont inoffensives pour le cobaye.

Il est intéressant de remarquer que la première souche immunise les animaux, tandis que la deuxième (PIR) ne confère qu'une résistance très faible ou presque nulle.

En règle générale, par différentes méthodes d'atténuation, les bactérides perdent simultanément leurs deux fonctions pathogènes ; on obtient alors des souches qui sont complètement avirulentes. Il peut aussi arriver que la capsulogenèse disparaît, tandis que la propriété cédématogène persiste. Si on inocule ces souches, particulièrement aux souris, un œdème prend naissance ; les bacilles prolifèrent sur place, mais la capsule étant absente, le processus ne peut pas atteindre la phase septicémique.

Si pour le développement du charbon les bacilles doivent posséder les deux fonctions, pour immuniser les animaux le pouvoir cédématogène seul suffit. Divers auteurs ont établi une relation entre la capsulogenèse et l'immunité. Combescu, en employant des bacilles animalisés, a obtenu chez le lapin des résultats certainement supérieurs à ceux que donnent des vaccins pasteuriens non encapsulés. Munne croit que la condition essentielle dans la production de l'immunité charbonneuse est l'encapsulation du germe au point d'inoculation.

Il n'existe pas, à notre avis, de *relation directe* entre la capsulogenèse et l'immunité. Mais il est bien démontré que les bacilles encapsulés résistent mieux aux réactions de l'organisme : leur destruction est plus lente et l'immunité qu'ils déterminent plus forte. De ce fait, la présence de la capsule peut donc favoriser l'exercice des fonctions bacillaires qui sont réellement responsables de l'immunité.

Conclusions.

1° Les variantes mucogènes, qui peuvent régulièrement être obtenues de souches virulentes de la Bactéridie charbonneuse

par culture dans le sang défibriné de cheval, donnent naissance à des colonies rugueuses. Celles-ci contiennent des germes qui ont perdu héréditairement la faculté de s'encapsuler ; mais quelquefois ces germes conservent la propriété de provoquer la formation d'un œdème.

2° Ces souches qui, sans être capsulogènes, sont encore œdémato-gènes, confèrent tant aux animaux de laboratoire qu'aux moutons, une immunité très forte, comparable à celle qui s'établit à la suite de l'inoculation de souches capsulogènes.

3° Etant donné que les germes de ces souches ne s'encapsulent jamais et qu'ils ne peuvent, de ce fait, provoquer une septicémie, nous croyons qu'ils conviennent parfaitement à l'immunisation des animaux domestiques contre le charbon.

4° Les œdèmes que ces souches non capsulogènes provoquent chez la souris donnent une certaine immunité au lapin.

5° La capsule ne peut intervenir *directement* dans la production de l'immunité anticharbonneuse. Il n'existe aucune relation entre la capsule et les aggressines de Bail.

BIBLIOGRAPHIE

- BAIL (O.). *Zbl. Bakt.*, 1 Orig., **75**, 1915, p. 159.
 BAIL (O.). *Zbl. Bakt.*, 1 Orig., **76**, 1915, p. 38.
 BEKKER. 15 th annual report of the director of Veterinary Services Union of South Africa, octobre 1929.
 BESREDKA (A.). *Ces Annales*, **35**, 1921, p. 421.
 COMRIESCU. *Arch. Roum. Path.*, **1**, 1928, p. 81.
 KRAUS (R.). *Seuchenbekämpfung*, **4**, 1924, p. 47.
 MAZZUCHI. Douzième Congrès international de Méd. Vétérinaire, 1934.
 MUNNE (V.). *Idem*.
 PREISZ (H.). *Zbl. Bakt.*, 1 Orig., **49**, 1909, p. 341.
 RAMON (G.) et STAUB (A.). *C. R. de l'Acad. des Sc.*, **204**, 1935, p. 241.
 RAMON (G.) et STAUB (A.). *Rev. d'Immunologie*, **2**, 1936, p. 401.
 SCHAEFER (W.). *C. R. de la Soc. Biol.*, **122**, 1936, p. 897 et 1178.
 STAMATIN (N.). *Arch. Veterinaria*, **26**, 1934, p. 1.
 STAMATIN (N.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **125**, 1937, p. 90.
 STAMATIN (N. et L.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **122**, 1936, p. 491 et 494.
 SIERNE (M.). *Onderspoort Journ. of Vet. Science and Animal Industry*, **8**, 1937, p. 271 ; **9**, 1937, p. 89.
 TAKAHASHI. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 399.

ACTION DE SUBSTANCES NON SPÉCIFIQUES SUR LE TAUX DES ANTICORPS (AGGLUTININES)

par ROBERT WAHL.

(*Institut Pasteur.*)

Les recherches concernant l'action de substances non spécifiques sur le taux des anticorps ont un double intérêt : au point de vue pratique, elles peuvent fournir des méthodes pour renforcer soit l'activité des sérum thérapeutiques, soit l'immunité vaccinale ; au point de vue théorique, elles peuvent donner certaines indications sur la genèse des anticorps. En particulier, suivant les résultats obtenus, on y trouvera des arguments pour ou contre la participation de l'antigène à la constitution de l'anticorps.

L'injection non spécifique peut être faite soit en cours d'immunisation, en même temps que l'injection d'antigène ou peu de temps après elle ; soit tardivement, après la baisse spontanée du taux des anticorps. Ces deux ordres d'expériences ont une portée toute différente.

1° *En cours d'immunisation*, les travaux de Ramon (1) ont montré qu'en mélangeant certaines substances (tapioca, chlorure de calcium, lanoline, cholestérol, etc.), à l'antigène, on augmente la production d'anticorps. Ces substances n'agissent pas directement, elles ne font que favoriser l'action de l'antigène, en provoquant une inflammation locale et en ralentissant sa pénétration.

Peut-on également renforcer l'immunisation par l'action directe de substances non spécifiques ? Il est difficile de l'établir puisque, à la suite de l'injection de l'antigène, il faut plusieurs jours pour que le taux des anticorps atteigne son maximum.

(1) RAMON. *Bull. Soc. Méd. Vétérinaire*, **178**, 1925, p. 227. *Revue Imm.*, **3**, 1937, p. 183 et **4**, 1938, p. 5. RAMON, LEMÉTAYER et RICHOU, *id.*, **3**, 1937, p. 202 ; RAMON, LEMÉTAYER, RICHOU et NICOL, *id.* **3**, 1937, p. 285 ; RAMON, RICHOU et STAUB, *id.*, **3**, 1937, p. 389.

Walburn (2) et ses collaborateurs ont, néanmoins affirmé qu'on augmente le taux des anticorps par des injections intraveineuses de sels métalliques (surtout de manganèse, de cobalt et de glucinium).

Bien d'autres substances auraient la même propriété, si on en croit de multiples publications. Citons seulement le bleu de méthylène [Furst] (3), l'alcool [Fraenkel] (4), Friedberger (5), l'adrénaline et la nicotine [Lena] (6), l'argent [Steaben] (7), les composés arsenicaux, organiques [Friedberger et Matsuda] (8), Agazzi (9), Walker et Ainley (10), la tuberculine [Thompson] (11), le chlorure de calcium, le bromure de sodium et le propionate de soude [Pfenninger] (12).

Ces diverses expériences ont été d'ailleurs critiquées, et Mac Intosh et Kingsbury (13), Pico (14), Hajo et Sternberg (15) en particulier, n'ont pas pu les reproduire.

2° *Après la baisse du taux des anticorps*, les conditions expérimentales sont absolument différentes. Il ne s'agit plus de modifier l'action de l'antigène, comme au cours de l'immunisation.

Les dernières traces d'antigène sont éliminées au bout d'une vingtaine de jours. Dans les semaines qui suivent, les anticorps du sérum diminuent progressivement. Si on peut, après plusieurs mois, augmenter leur taux par une injection non spécifique, il paraît évident que cette action s'exerce en dehors de toute intervention de l'antigène.

Beaucoup d'expérimentateurs ont utilisé pour cette injection

- (2) WALBUM. Ces *Annales*, **37**, 1923, p. 397. — ORSKOV et SCHMIDT. *Zeit. Imm. Forsch.*, **55**, 1928, p. 69.
- (3) FURST. *Arch. f. Hyg.*, **89**, 1920, p. 161.
- (4) FRAENKEL. *Berl. Klin. Woch.*, 1925.
- (5) FRIEDBERGER. *Berl. Klin. Woch.*, 1925.
- (6) LENA. *Med. Klin.*, 1907, p. 450.
- (7) STEABEN. *Brit. Journ. Exp. Path.*, **6**, 1925, p. 1.
- (8) FRIEDBERGER et MATSUDA. *Ther. Monatschr.*, **25**, 1912, p. 288.
- (9) AGAZZI. *Zeits. Imm. Forsch.*, **1**, 1909, p. 736.
- (10) WALKER et AINLEY. *Med. Res. Council.*, Londres, 1920.
- (11) THOMPSON. *Journ. Med. Res.*, **21**, 1922, p. 25.
- (12) PFENNINGER. *Zbl. J. Bakt.*, **80**, 1918, p. 200.
- (13) MAC INTOSH et KINGSBURY. *Brit. Journ. Exp. Path.*, **5**, 1924, p. 18.
- (14) PICO. *C. R. Soc. Biol.*, **90**, 1924, p. 1049.
- (15) HAJOS et STERNBERG. *Z. f. Imm. Forsch.*, **34**, 1922, p. 218.

de rappel un microbe différent du premier. On peut objecter que les deux germes peuvent avoir un antigène commun.

Aussi pensons-nous qu'il faut attacher plus d'importance aux recherches portant sur l'action de substances définies : peptone [Obermayer et Pick] (16), deutéro-albumose et nucléinate de soude (17, 18) [Fleckseder, Jaggi, Matsuda] (19) sur la production des agglutinines.

Faisons remarquer que, en ce qui concerne les antitoxines, Ramon (20) a montré qu'il est impossible d'en modifier le taux avec des substances non spécifiques.

Nous avons choisi, parmi tous les produits qui ont été employés, ceux qui paraissent avoir donné les résultats les plus nets et les plus constants : au cours de l'immunisation, le chlorure de magnésium, très étudié par Walbum et ses collaborateurs, à la période tardive la deutéroalbumose et le nucléinate de soude, utilisés surtout par Jäggi.

Les expériences ont porté sur 8 lapins, à peu près de même poids, dont 4 furent préparés avec une suspension de bactilles typhiques et les 4 autres avec une suspension de vibrios cholériques. La même souche de chaque microbe fut utilisée tant pour les injections que pour les agglutinations.

Tous les animaux reçurent, à quatre jours d'intervalle, deux injections intra-veineuses (1 cent. cube et 2 cent. cubes) d'une suspension microbienne faite avec quatre cultures de dix-huit heures sur gélose inclinée dans 20 cent. cubes d'eau physiologique.

Pour les réactions d'agglutination, on ne prenait chaque fois que 1 à 2 cent. cubes de sang. On a dit, en effet, que la saignée pouvait éléver le taux des anticorps; mais la soustraction de quantités aussi faibles mettait à l'abri de telles modifications. Par surcroît de précaution, on a espacé les prises de sang le plus possible. Pendant toute la période qui a précédé les injections non spécifiques, on s'est borné à pratiquer celles qui étaient indispensables pour connaître l'allure générale de la courbe des agglutinines. Après ces injections,

(16) OBERMAYER et PICK. *Wien. Klin. Woch.*, 1904, p. 17.

(17) FLECKSEDER. *Wien. Klin. Woch.*, 29, 1937, p. 637.

(18) JAGGI. *Z. Imm. Forsch.*, 36, 1923, p. 482.

(19) MATSUDA. *Z. Imm. Forsch.*, 41, 1924, p. 44.

(20) G. RAMON. *Presse Médic.*, 1933, p. 1377 et 1437.

les prises de sang ont été obligatoirement plus rapprochées.

Les réactions d'agglutination furent examinées après un séjour de deux heures à l'étuve à 37°, et revues après un séjour de vingt-quatre heures au laboratoire. L'agglutination macroscopique fut toujours contrôlée au microscope.

Le taux d'agglutination avait été d'abord approximativement repéré lors des premières expériences. Dans chaque expérience, les premières dilutions étaient faites en progression géométrique jusqu'au voisinage de la zone limite d'agglutination, puis en progression arithmétique.

Avant la première injection d'antigène, on avait déterminé pour chaque animal le taux des agglutinines « naturelles » correspondantes. Les sérums agglutinaient tous spontanément le *B. typhique* (à un taux de 1/5 à 1/40). Aucun d'eux n'agglutinait le *V. cholérique*.

Il est à remarquer, par ailleurs, que, à la suite de l'injection d'antigène, les agglutinines ont atteint un taux beaucoup plus élevé chez les animaux préparés avec le *B. typhique* pour lequel ils avaient des agglutinines naturelles, que chez ceux qui ont reçu des injections de *V. cholérique*.

Les animaux étaient soumis à une surveillance régulière et ils étaient pesés fréquemment. Aucun ne souffrit du traitement par les injections de l'antigène ou des substances non spécifiques.

ÉVOLUTION DES AGGLUTININES A LA SUITE DE L'INJECTION D'ANTIGÈNE.

Les courbes des agglutinines étaient toutes parallèles. On sait que, d'ordinaire, après une ascension rapide, le taux des anticorps reste quelque temps stationnaire puis s'abaisse progressivement.

C'est ce que nous avons constaté au huitième jour, le taux avait atteint à peu près son maximum, au dix-huitième jour, il n'avait guère changé, et par la suite, la baisse était progressive. Au bout de trois mois environ, la courbe avait atteint un minimum après lequel elle présentait un plateau : le taux des agglutinines s'était stabilisé et se maintenait remarquablement fixe, à plusieurs contrôles, et cela pendant des semaines. Cette remarque est importante, car elle donne

toute sa valeur aux montées d'agglutinines qui ont suivi, dans certains cas, les injections non spécifiques.

Six des animaux furent laissés sans nouveau traitement pendant plusieurs mois après l'injection d'antigène. Deux d'entre eux (n°s 3 et 5) succombèrent au bout de trois mois à une pasteurellose. On avait pu cependant vérifier que leur courbe d'agglutinines était semblable à celle des autres.

Le tableau suivant montre l'évolution des agglutinines chez ces 6 animaux (21) :

	<u>B. TYPHIQUE</u>			<u>V. CHOLÉRIQUE</u>		
	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>
0 heure	5	15	40	0	0	0
8 ^e jour	5.000	3.000	6.000	1.000	900	4.000
19 ^e jour	5.000	3.000	7.000	"	700	"
76 ^e jour	1.000	3.000	3.000	100	100	100
107 ^e jour	1.000	1.000	1.000	100	100	100
111 ^e jour	1.000	"	1.000	"	"	"
126 ^e jour	1.000	"	"	"	"	100
130 ^e jour	1.000	"	"	100	100	100
140 ^e jour	1.000	"	"	"	"	"

INJECTIONS DE CHLORURE DE MANGANESE EN COURS D'IMMUNISATION.

Deux animaux reçurent, à partir du douzième jour qui suivit la première injection d'antigène, tous les jours pendant dix jours, une injection intraveineuse d'une solution de chlorure de manganèse dans l'eau physiologique à 9 p. 1.000 (1 cent. cube par kilogramme d'une solution M/1.000 de chlorure de manganèse) suivant la technique de Walbum.

Voici les résultats obtenus chez ceux-ci :

	<u>B. TYPHIQUE 2</u>	<u>V. CHOLÉRIQUE 8</u>
0 heure	5	0
9 ^e jour	5.000	900
12 ^e jour	7.000	700
13 ^e jour	7.000	700
15 ^e jour	9.000	1.000
19 ^e jour	3.000	800
22 ^e jour	6.000	1.060
76 ^e jour	4.000	50
126 ^e jour	1.000	50
130 ^e jour	1.000	50
140 ^e jour	1.000	50

(21) La colonne 0 indique le taux des agglutinines naturelles immédiatement avant la première injection d'antigène.

Les injections de chlorure de manganèse ont donc produit des oscillations assez fortes dans la courbe des agglutinines, courbe habituellement plus régulière. Le taux tantôt s'élevait, tantôt s'abaissait. Mais ces modifications furent de peu de durée. L'allure générale de la courbe fut peu modifiée et, par la suite, la baisse des agglutinines fut parallèle à celle observée chez les animaux témoins aboutissant à des chiffres analogues dans les mêmes délais.

INJECTION DE RAPPEL APRÈS LA CHUTE DES ANTICORPS.

Les injections furent faites chez les six animaux survivants quatre mois et demi après l'injection d'antigène, sauf pour le numéro 4, injecté au bout de trois mois et demi.

Quatre d'entre eux ne reçurent qu'une seule injection (0 gr. 075 de deutéroalbumose ou 0 gr. 75 de nucléinate de soude dans 2 c. c. 5 d'eau physiologique (22) suivant la technique de Jäggi.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus.

	B. TYPHIQUE		V. CHOLÉRIQUE	
	deutéroalb. 1	nucl. de soude 4	deutéroalb. 6	nucl. de soude 7
0 heure . . .	1.000	1.000	100	100
6 heures . . .	1.000	1.000	100	100
2 ^e jour . . .	1.000	1.000	100	100
3 ^e jour . . .	3.000	1.000	100	100
6 ^e jour . . .	5.000	2.000	100	100
9 ^e jour . . .	5.000	4.000	50	100
16 ^e jour . . .	5.000	4.000	100	50
23 ^e jour . . .	5.000	4.000	"	100
32 ^e jour . . .	5.000	4.000	"	100
45 ^e jour . . .	5.000	"	"	100
54 ^e jour . . .	4.000	"	"	100
78 ^e jour . . .	4.000	"	"	100

Le n° 4 et le n° 6 sont morts, au cours de l'expérience (pasteurellose), le premier le 30^e jour, le second le 25^e jour.

On voit que les animaux préparés avec le bacille typhique ont répondu par une forte augmentation du taux des agglutinines et que ceux qui avaient reçu du vibrion cholérique n'ont

(22) Produits de la maison Merck.

pas réagi à l'injection non spécifique. Le même contraste s'est retrouvé, comme nous le verrons plus bas, entre les deux derniers animaux préparés l'un avec le bacille typhique, l'autre avec le vibron cholérique, chez lesquels l'injection de rappel a été ensuite renouvelée.

Il est évident que cette différence n'est pas due à la nature de l'antigène (bacille typhique ou vibron cholérique). Elle paraît dépendre de l'intensité plus ou moins grande de la réponse à l'injection d'antigène. En effet, il faut remarquer que, chez les animaux préparés avec le bacille typhique, le taux des agglutinines avait atteint un chiffre élevé après l'injection d'antigène (1 p. 3.000 ou 1 p. 6.000) alors que le vibron cholérique n'avait provoqué qu'une réaction beaucoup plus faible (1 p. 900 et 1 p. 1.000).

Après la baisse du taux des agglutinines, avant l'injection de rappel, celles-ci s'étaient stabilisées à un niveau encore élevé (1 p. 1.000) dans les cas du bacille typhique, très faible (1 p. 100 ou 1 p. 50) dans le cas du vibron cholérique. Relativement au taux initial, la baisse a été même plus forte dans le second cas.

La réponse à l'injection de rappel, quand elle est positive, est comparable à celle que provoque l'antigène. Après une phase de latence de trois ou quatre jours, le taux des agglutinines s'élève rapidement. Il atteint son maximum à la fin de la première semaine et reste ensuite stationnaire assez longtemps. Il paraît même s'abaisser plus lentement qu'après l'injection d'antigène, car il restait encore très élevé après deux mois et demi.

Il ne s'agit donc pas de l'action immédiate et fugace produite dans les heures qui suivent l'injection, telle qu'on l'obtient avec certains autres procédés (saignée, agents physiques, etc.), mais d'un effet progressif et durable comme celui de l'antigène lui-même.

RÉPÉTITION DES INJECTIONS.

Enfin, devant ces résultats tantôt positifs, tantôt négatifs, il était intéressant de rechercher s'il était possible de renforcer l'action en répétant les injections.

Nous avons donc, chez les deux autres animaux (ceux qui avaient déjà reçu les injections de chlorure de manganèse), fait trois injections de deutéro-albumose (successivement de 0 gr. 08, 0 gr. 09 et 0 gr. 10). La deuxième était faite le neuvième jour et la troisième le douzième jour. L'un d'entre eux (bacille typhique) a répondu positivement à la première injection de rappel ; le deuxième (vibrion cholérique) a répondu négativement. Chez le premier, on n'a pas pu renforcer notablement l'action en répétant les injections ; chez le second, la répétition des injections a permis d'obtenir une réaction, là où l'injection unique avait échoué. Cette réaction fut d'ailleurs faible et de courte durée. Dans les cas où une seule injection a donné un résultat positif, l'action paraît donc atteindre son maximum d'emblée, et ne pouvoir être renforcée.

Au contraire, un résultat d'abord négatif peut être rendu légèrement positif quand on répète les injections. Le tableau suivant indique ces résultats.

Il faut noter, d'ailleurs, que les agglutinines sont ramenées d'emblée au voisinage du taux initial.

	B. TYPHIQUE 2	V. CHOLÉRIQUE 8
0 heure	1.000	50
2 ^e jour.	3.000	200
3 ^e jour.	3.000	100
6 ^e jour.	5.000	100
8 ^e jour.	5.000	100
10 ^e jour.	5.000	300
12 ^e jour.	4.000	400
13 ^e jour.	6.000	400
18 ^e jour.	6.000	500
22 ^e jour.	5.000	200
32 ^e jour.	5.000	200
45 ^e jour.	5.000	200
54 ^e jour.	4.000	100
78 ^e jour.	4.000	100

En résumé, la réaction des animaux aux injections d'antigène a été semblable dans tous les cas. Les agglutinines ont atteint au huitième jour un taux voisin de 1/3.000 pour le bacille typhique et de 1/1.000 pour le vibrion cholérique. Ce taux

s'est maintenu quelque temps, puis s'est abaissé plus ou moins rapidement. Au bout de deux mois et demi à trois mois, la descente s'est arrêtée, le taux des agglutinines s'est stabilisé.

En cours d'immunisation, les injections de chlorure de manganèse n'ont agi qu'inconstamment, et de façon légère et fugace. Elles n'ont pas renforcé, dans l'ensemble, l'action de l'antigène.

Après la baisse des agglutinines, une injection de nucléinate de soude ou de deutéro-albumiose a ramené dans certains cas les agglutinines au voisinage du taux initial. Dans d'autres cas, elle n'a pas eu d'effet notable.

Les réponses positives ont été données par les animaux qui avaient réagi le plus fortement à l'injection d'antigène et dont le sang contenait encore une quantité notable d'anticorps. Il se trouve que, dans nos expériences, c'était ceux qui avaient été préparés avec le bacille typhique. La courbe due à l'injection de rappel était alors parallèle à la courbe d'immunisation : même période d'incubation de deux à trois jours, même ascension progressive au voisinage du taux initial. Elle atteignait son maximum vers le dixième jour. Le taux s'est maintenu à un niveau élevé de façon prolongée et il était encore voisin du taux initial deux mois et demi après l'injection de rappel et huit mois après l'injection d'antigène.

En répétant l'injection non spécifique, dans un cas positif, on n'est pas parvenu à en renforcer véritablement l'effet : on n'a obtenu qu'une très légère élévation supplémentaire, et pendant quelques jours seulement. L'évolution ultérieure de la courbe fut la même que chez les animaux n'ayant reçu qu'une seule injection de rappel.

Les cas négatifs étaient ceux où la réponse à l'injection d'antigène avait été faible (vibron cholérique), et chez qui le taux des anticorps était minime au moment de l'injection non spécifique.

Dans l'un de ceux-ci, on a répété les injections de rappel, et on a pu ainsi faire apparaître une élévation assez faible, mais relativement durable du taux des agglutinines.

CONCLUSIONS.

1^o *En cours d'immunisation*, nous n'avons pas pu modifier le taux des agglutinines par des injections non spécifiques.

2^o *A la période de stabilisation des agglutinines*, on peut en ramener le taux au voisinage du chiffre initial par des injections de deutéro-albumose ou de nucléinate de soude.

Ceci ne paraît pas plaider, en ce qui concerne les agglutinines, en faveur d'une participation directe de l'antigène à la constitution de l'anticorps.

En effet, si on admet que les anticorps sont des globulines modifiées (ce qui paraît ressortir, en particulier, des travaux récents de Heidelberger), ils doivent subir, comme toutes les protéines, un renouvellement constant. Il en résulte que la quantité totale d'agglutinines mise en circulation pendant des mois, augmentée de celle qui apparaît encore pendant plusieurs semaines à la suite de l'injection de deutéro-albumose ou de nucléinate de soude paraît véritablement hors de proportion avec la quantité d'antigène introduite une fois pour toutes dans l'organisme.

Les agglutinines ne paraissent donc pas se comporter comme les antitoxines vis-à-vis des actions non spécifiques. Ramon et ses collaborateurs ont, en effet, montré qu'en dehors du cas particulier de l'injection de substances « adjuvantes et stimulantes » *mélangées à l'antigène*, aucune substance, autre que l'anticorps, n'est capable de produire de l'antitoxine et d'en augmenter la quantité.

3^o La réponse à l'injection de rappel non spécifique paraît nettement dépendre dans ses modalités de la réaction primitive à l'injection d'anticorps. En effet, le taux des agglutinines remonte, au plus, à la valeur initiale. Il ne la dépasse pas, même si on répète les injections. On sait qu'il en est différemment pour une nouvelle injection de l'antigène faite longtemps après la première. Celle-ci peut permettre d'élever, dans certains cas, le taux des anticorps bien au-dessus du niveau primitif.

4^o Il est important également de remarquer qu'on n'a pas constamment une réponse à l'injection non spécifique et il

semble qu'il faille pour en obtenir une que l'antigène ait provoqué initialement une abondante formation d'anticorps, et qu'il en reste encore en circulation une notable quantité.

On peut donc penser que l'injection de rappel non spécifique hâte la mise en circulation des agglutinines, sans peut-être en augmenter réellement la quantité totale présente dans l'organisme.

LES ANTIGÈNES SOMATIQUES ET FLAGELLAIRES DES BACTÉRIES (*)

par ANDRÉ BOIVIN

avec la collaboration de LYDIA MESROBEANU.

(*Institut Pasteur, Annexe de Garches.*)

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	426
<i>Première partie : les Antigènes somatiques des Bactéries</i>	428
Propriétés générales des Antigènes somatiques	428
Haptènes polysaccharidiques et Antigènes complets correspondants	435
Les Antigènes glucido-lipidiques	449
La question de l'Antigène Vi du bacille typhique	459
<i>Deuxième partie : les Antigènes flagellaires des Bactéries</i>	464
BIBLIOGRAPHIE	472

Introduction.

Les antigènes des bactéries sont des substances qui existent dans les corps microbien (antigènes somatiques) et dans les cils (antigènes flagellaires) et qui ont la propriété d'engendrer des anticorps capables d'agglutiner spécifiquement les bactéries correspondantes et capables — du moins certains d'entre eux — de protéger spécifiquement les animaux contre l'infection par ces bactéries.

Il nous est impossible, dans le cadre du présent Rapport, d'analyser de façon complète les innombrables travaux qui ont été consacrés aux antigènes bactériens. En nous astreignant à ne passer sous silence aucun aspect vraiment impor-

(*) Rapport présenté le 27 octobre 1938 au premier Congrès des microbiologistes de langue française, à Paris.

tant de la question, nous nous sommes attachés surtout aux travaux les plus récents, et tout spécialement à ceux qui ont envisagé les rapports existant entre les antigènes des bactéries et la virulence et le pouvoir immunisant de ces bactéries. Cela nous a conduit à résERVER, dans notre étude, une place tout à fait prépondérante aux antigènes somatiques, place à laquelle ces antigènes ont pleinement droit, d'autre part, par le fait qu'ils sont présents dans toutes les bactéries, mobiles et immobiles. Pour de plus amples détails sur les antigènes microbiens, nous renvoyons aux grands traités classiques d'immunologie et à quelques monographies récentes, dont on voudra bien trouver l'indication bibliographique à la fin de ce Rapport [1].

Nous serons très bref en matière d'historique. Il y a plus de trente ans, Smith et Reagh, puis Beyer et Reagh [2] ont montré que les formes mobiles des *Salmonella* portent deux antigènes distincts : un antigène somatique thermostable et un antigène flagellaire thermolabile. Ces deux antigènes donnent naissance, chez l'animal, à deux agglutinines distinctes. Quant aux formes immobiles des mêmes germes, elles ne renferment que le seul antigène somatique et elles ne donnent naissance qu'à la seule agglutinine correspondante. Chose curieuse, ces remarquables observations n'attirèrent que fort peu l'attention, au moment où elles furent faites, et elles ne prirent toute leur valeur que près de vingt ans plus tard, lorsque Weil et Felix [3] retrouvèrent les mêmes deux antigènes, au cours de leurs études sur l'agglutination du *Proteus* X-19 par le sérum des malades atteints de typhus exanthématique (Réaction de Weil-Felix). Depuis lors, de nombreuses recherches, dues à Weil et Felix et à d'autres auteurs, ont montré que les deux antigènes en question coexistent, non seulement chez les *Salmonella* et chez les *Proteus*, mais encore chez les autres bactéries flagellées (vibrions, etc.); quant à l'antigène somatique, il existe seul chez les microbes immobiles.

Weil et Felix ont nommé forme H la variante mobile du *Proteus* et forme O la variante immobile du même germe (1).

(1) Les *Proteus* flagellés, qui sont doués d'une très grande mobilité,

L'habitude a été bientôt prise d'appeler antigènes H les antigènes flagellaires de toutes les bactéries et antigènes O les antigènes somatiques. Ce sont là des appellations classiques qu'il convient de conserver, mais il faut bien prendre garde que si la forme O de Weil et Felix ne porte que le seul antigène O, par contre la forme H des mêmes auteurs possède à la fois les deux antigènes H et O.

PREMIÈRE PARTIE

LES ANTIGÈNES SOMATIQUES DES BACTÉRIES

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DES ANTIGÈNES SOMATIQUES.

Lorsqu'on injecte à l'animal des bactéries porteuses d'antigène somatique O, l'anticorps correspondant, ou anticorps O, fait son apparition dans le sang. Sous l'action de cet anticorps, les bactéries s'agglutinent lentement, en donnant de petits granules difficiles à disperser par agitation (agglutination dite somatique). Dans le cas des bactéries flagellées, on se débarrasse aisément de l'antigène H, en chauffant les microbes à 100° ou en les laissant en contact avec de l'alcool. Les bactéries, ainsi traitées, gardent intact leur antigène O et peuvent servir soit pour pratiquer des agglutinations, soit pour immuniser des animaux afin d'obtenir l'anticorps O à l'état pur.

On sait depuis Arkwright [4], qu'une même bactérie peut se présenter souvent sous deux variantes, bien distinctes par l'aspect de leurs colonies sur gélose, par l'aspect de leur culture en bouillon et par leur comportement en présence des électrolytes. La variante « smooth » donne des colonies lisses, une culture homogène sur bouillon et elle ne s'agglutine pas

ne donnent pas de colonies séparées sur gélose, mais un film continu (*Hauch* en allemand, d'où forme H). Au contraire, les *Proteus* immobiles donnent des colonies et non un film (*Ohne Hauch*, d'où forme O). Il convient de noter immédiatement que l'immense majorité des germes flagellés (les *Salmonella* en particulier), donnent des colonies distinctes et non pas des films.

spontanément dans le sérum physiologique. La variante « rough » donne des colonies rugueuses, une culture en dépôt sur bouillon et elle s'agglutine spontanément dans le sérum physiologique. Au cours des repiquages successifs d'une souche smooth, on peut voir apparaître la variante rough et cela plus ou moins facilement d'un cas à l'autre. Le passage inverse, de la forme rough à la forme smooth, tout en étant possible, reste exceptionnel. Or, ces deux variantes diffèrent entre elles par leur structure antigénique. Comme White [5] l'a montré, la forme rough porte un antigène somatique stable lui aussi, vis-à-vis de la chaleur et de l'alcool, mais bien distinct, par sa spécificité, de l'antigène somatique O caractéristique de la forme smooth. L'anticorps somatique rough est complètement distinct de l'anticorps somatique O, chacun d'eux n'agglutinant que la variante qui lui correspond (2). Notons bien que chez les bactéries normalement mobiles, on rencontre, à côté des variantes usuelles smooth et rough mobiles, des variantes smooth et rough immobiles, ce qui prouve bien la complète indépendance des antigènes somatiques et flagellaires.

Nous ne pouvons pas faire ici un compte rendu détaillé des innombrables travaux qui ont précisé la spécificité des antigènes somatiques des variantes smooth et rough des diverses bactéries. Nous renvoyons le lecteur aux traités classiques de bactériologie et d'immunologie. Disons seulement que dans un groupe de bactéries étroitement apparentées, il est fréquent de rencontrer, parmi les formes smooth, des types absolument distincts par la spécificité de leur antigène O, alors que de semblables types n'existent nullement

(2) Lorsqu'avec un sérum, on veut agglutiner une forme smooth, on travaille en eau physiologique. Une pareille façon de faire n'est plus de mise dans le cas d'une forme rough, spontanément agglutinable par des concentrations tant soit peu élevées d'électrolytes. Il convient, dans ce cas, de travailler dans un milieu pauvre en sels, ne renfermant par exemple que 2/1.000 de ClNa. D'après White, on peut supprimer, chez une *Salmonella* rough, l'agglutinabilité non spécifique par les sels (et aussi l'agglutinabilité non spécifique par tous les sérums, qui se présente quelquefois) en faisant subir au préalable, aux bactéries, une extraction par l'alcool. Bien entendu, l'antigène H se trouve détruit au cours de ce traitement.

chez les formes rough correspondantes. Ainsi, par exemple, chez les *Salmonella*, les formes smooth donnent lieu à de nombreux types distincts par la spécificité de leur antigène O (typhique, para. A, para. B, para. C, etc.), pendant que toutes les formes rough correspondantes sont pratiquement indistinguables entre elles par agglutination, ainsi que Schütze l'a montré le premier [6]. Une situation tout à fait analogue se rencontre chez les pneumocoques : à l'équivalence sérologique de toutes les formes rough s'oppose l'existence de nombreux types distincts parmi les formes smooth. Dochez et Gillespie [7], dès 1913, ont distingué les trois types principaux : I, II et III, à côté desquels sont venus se ranger depuis, de nombreux autres types (on en connaît actuellement 32 au total, d'après Cooper et ses collaborateurs [8]).

De très importantes études ont été poursuivies sur l'antigène O des *Salmonella*, qui ont conduit à la notion de facteurs antigéniques. Il convient de citer avant tout les travaux de White [9], qui ont été confirmés, sur tous les points essentiels, et étendus à des *Salmonella* nouvelles par Kauffmann [10]. Nous ne pouvons entrer ici dans le détail de ces importantes recherches et nous nous contenterons de donner le principe de la méthode qui fut mise en œuvre. On prépare des sérum (anticorps O), correspondant aux divers types de *Salmonella* et avec ces sérum non absorbés, ou absorbés par un type donné, ou enfin absorbés successivement par plusieurs types, on pratique des agglutinations croisées avec les diverses *Salmonella*. On arrive à prouver, de la sorte, que l'antigène O de beaucoup de *Salmonella* renferme deux ou plusieurs facteurs distincts, à chacun desquels correspond un anticorps particulier. White et Kauffmann différaient dans leur nomenclature des facteurs antigéniques. Il y avait là une cause de confusion qui a été supprimée en 1934, par la décision d'une commission internationale [11] d'adopter, à l'exclusion de toute autre, la nomenclature de Kauffmann. Nous reproduisons ici, d'après une publication toute récente de Kauffmann [12], un tableau des facteurs antigéniques O essentiels des *Salmonella* (3). Ces facteurs, au nombre d'une

(3) Ce tableau renferme, en outre, les facteurs antigéniques H essentiels.

vingtaine, sont notés par des chiffres romains. On a laissé de côté certains facteurs accessoires, comme le facteur XII qui est commun à beaucoup de *Salmonella*, puisqu'on le rencontre chez le *B. typhique*, chez les *B. paratyphiques A et B*, chez le *B. d'Aertrycke* et chez le *B. de Gärtnner* (4). Les *Salmonella* qui possèdent plusieurs facteurs antigéniques peuvent présenter des variantes auxquelles manquent un ou deux de ces facteurs. Ainsi par exemple, le *B. paratyphique B* et le *B. d'Aertrycke*, qui ont pour formule antigénique complète I, IV et V, présentent trois variantes dont les formules sont respectivement : I et IV ; IV et V ; IV [13]. Notons enfin que les facteurs antigéniques d'une même bactérie peuvent différer par leur résistance à certaines actions chimiques. Ainsi, par exemple, le facteur V est alcali-labile et acido-labile, contrairement à ce qui a lieu pour le facteur IV [14].

*
* *

Nous allons maintenant envisager, de façon rapide, les rapports qui peuvent exister entre la nature (smooth ou rough) de l'antigène somatique des bactéries et la virulence et le pouvoir vaccinant de ces bactéries. Nous aurons du reste, à plusieurs reprises, l'occasion de revenir sur cette importante question, dans la suite du présent Rapport.

Considérons diverses souches répondant les unes à la variante smooth et les autres à la variante rough d'une même bactérie et recherchons leur virulence pour une espèce animale donnée. On peut dire qu'en règle générale les souches smooth, quoique inégalement virulentes entre elles, sont bien plus virulentes que les souches rough. Ce fait a été établi par De Kruif sur l'exemple des *Pasteurella*, par Griffith sur l'exemple

tiels des *Salmonella*. (On a laissé de côté les facteurs H accessoires). On a noté par des caractères gras les facteurs O et H qui sont communs à de nombreux types de *Salmonella*, ou à tous les types de *Salmonella*.

(4) Ce facteur accessoire commun explique, au moins pour une large part, le fait suivant, rencontré par de nombreux auteurs : dans les infections typho-paratyphoïdiques, il est fréquent de voir le sérum des malades renfermer des anticorps O capables d'agglutiner à la fois le typhique et les deux paratyphiques A et B, le germe infectant donnant, en général, le titre d'agglutination le plus élevé.

Tableau des facteurs antigéniques essentiels des *Salmonella* d'après Kauffmann.

<i>Salmonella</i>	ANTIGÈNE O		ANTIGÈNE H		Phase non spécifique	
			Phase spécifique			
	I	II	Phase α	Phase β		
Paratyphi A			a			
Paratyphi B	I	IV	V		4-2	
Typhi murium (Aertrycke)	I	IV	V		4-2	
Stanley	I	IV	V		4-2	
Heidelberg						
Chester						
Derby						
Reading						
Brandenburg						
Essen 4/3						
Bispebjerg						
Abortus equi						
Abortus ovis						
Abortus bovis						
Bredene	I	IV	b		4-6	
Schleissheim	I	IV	b		4-7	
Paratyphi C (Hirschfeld)			VII		4-5	
Cholera suis (Suipestifer)			VII	c	4-5	
Typhi suis			VII	c	4-5	
Thompson			VII	c	4-5	
Virchow			VII	k	4-5	
Oranienburg			VII	r	4-2	
Potsdam			VII	m-t		
Bareilly			VII	t-v		
Montevideo			VII	y		
Oslo			VII	g-m-s		
			VII	o		

Typhi	IX	<i>d</i>	<i>j</i>	
Enteritidis (Gärtner)	IX	<i>g-m</i>		
Dublin	IX	<i>g-p</i>		
Moscow	IX	<i>g-p-u</i>		
Bledgdam	IX	<i>g-q</i>		
Berta	IX	<i>g-m-q</i>		
Sendai	I	<i>f-g-t</i>		
Eastbourne	IX	<i>a</i>		
Dar es salaam	IX	<i>e-h</i>		
Panama	I	<i>l-w</i>		
Gallinarum	IX	<i>l-v</i>		
		<i>e-n</i>		
			1-5	
London	III	X		
Give	III	X		
Anatum	III	X		
Muenster	III	X		
Nyborg	III	X		
Newington	III	XV		
Selandia	III	XV		
New Brunswick	III	XV		
Sentenberg	III	XIX		
		<i>g-s-l</i>		
Aberdeen	XI	<i>i</i>		
Poona	XIII	<i>z</i>		
Onderste poort	XIV	<i>e</i>		
Hvittingfoss	XVI	<i>b</i>		
Gaminara	XVI	<i>d</i>		
Kirklee	XVII	<i>b</i>		
			1-2	
			1-6	
			4-5	
			<i>e-n-x</i>	
			4-7	
			1-2	

des pneumocoques et par Topley et Ayrton en ce qui regarde les *Salmonella* [15]. De façon plus précise, Arkwright [16], confirmé depuis par divers auteurs, a montré que chez les *Salmonella*, les variantes pourvues d'antigène O (smooth mobile et smooth immobile) sont beaucoup plus virulentes que les variantes dépourvues du même antigène (rough mobile et rough immobile). Cela démontre bien la grande importance de l'antigène somatique O et l'absence de signification de l'antigène rough et de l'antigène H pour la virulence de ces germes.

Il en va tout à fait de même en ce qui concerne le pouvoir vaccinant des bactéries tuées. Ici encore, Arkwright [16] a montré que le rôle de premier plan est dévolu à l'antigène somatique O et non pas à l'antigène somatique rough ou à l'antigène H. Une pleine confirmation de ces résultats a été apportée tout d'abord par les expériences de Schütze et par celles que Topley et ses collaborateurs ont effectuées, dans le cadre de leurs belles recherches d'épidémiologie expérimentale [17] puis, ultérieurement, par de nombreux autres auteurs travaillant pour la plupart sur les *Salmonella*. Le rôle prépondérant de l'antigène O dans le pouvoir vaccinant et de l'anticorps O dans l'immunité anti-infectieuse s'explique aisément. En effet, après que Weil et Felix eurent démontré que c'est l'anticorps O qui intervient au premier chef dans le phénomène de fixation du complément par les bactéries sensibilisées par les sérum antibactériens, Felix et Olitzki prouvérent que c'est cet anticorps O qui est responsable du pouvoir bactériolytique qu'exercent les sérum en question et Braun et Nodake montrèrent que c'est toujours le même anticorps O qui joue un rôle de premier plan dans la sensibilisation spécifique des bactéries à la phagocytose [18].

On peut formuler une théorie fort vraisemblable de l'intervention de l'antigène O et de l'anticorps O dans les phénomènes de virulence et d'immunité anti-infectieuse. Il y a lieu de penser que l'antigène O forme, chez la bactérie smooth, une couche superficielle qui la protège contre les moyens d'attaque dont dispose l'organisme à son égard : lyse par le complément et phagocytose par les leucocytes et par les cellules réticulo-endothéliales. Cela peut rendre compte de la

virulence élevée des formes smooth. Lorsque l'anticorps O vient se fixer sur l'antigène O, une modification s'installe, par là-même, dans l'état superficiel de la bactérie, qui se traduit par la sensibilisation de cette dernière, non seulement à l'agglutination par les électrolytes, mais encore à la lyse et à la phagocytose. Cela explique l'action anti-infectieuse de l'anticorps O. Dans d'ingénieuses expériences, Jones, d'une part, et Mudd et ses collaborateurs, d'autre part [19], ont pu réaliser un intéressant « modèle » rappelant une bactérie recouverte d'antigène O : on fait adsorber une protéine par la surface de fines particules de collodium ; ces particules, mises en contact avec un sérum précipitant correspondant à la protéine en question, s'agglutinent et deviennent très aisément phagocytables par les leucocytes, *in vitro*.

HAPTÈNES POLYSACCHARIDIQUES ET ANTIGÈNES COMPLETS CORRESPONDANTS.

Préoccupons-nous maintenant de préciser la nature chimique des antigènes somatiques des bactéries. Dans ce domaine, nous allons voir jouer un rôle de tout premier plan à des substances polysaccharidiques.

C'est qu'en effet, on a pu retirer des bactéries les plus variées des polysaccharides qui, dans les réactions de précipitation par les sérums anti-bactériens, se comportent exactement comme le font les germes correspondants dans les réactions d'agglutination somatique. Les études fondamentales ont été effectuées sur le pneumocoque, par les travailleurs de l'Institut Rockefeller de New-York. Nous ne pouvons ici que résumer les grandes lignes de la question et renvoyer, pour plus de détails, à la revue récente de Pochon [20].

Le point de départ des recherches américaines a été la découverte, effectuée en 1917 par Dochez et Avery [21], d'une substance présente dans les cultures de pneumocoque et susceptible de précipiter spécifiquement par le sérum antibactérien correspondant à la souche de pneumocoque mise en oeuvre. En 1923, Heidelberger et Avery [22] publièrent leurs premiers résultats touchant la nature polysaccharidique de la substance en question puis, dans les années suivantes, de

nombreux et importants mémoires de ces auteurs se succèdent, dont nous ne pouvons ici que résumer l'essentiel [23].

A chaque type sérologique de pneumocoque smooth (encapsulé) correspond un polysaccharide spécifique, qu'on peut extraire des cultures et qui paraît ne représenter rien d'autre que la matière glucidique constituant la capsule du germe. Les polysaccharides des différents types diffèrent entre eux par leurs propriétés physiques (pouvoir rotatoire, etc.) et par leur constitution chimique (nature et proportion de leurs produits d'hydrolyse : sucres, sucres aminés et acides « uroniques »). Ces polysaccharides sont spécifiques : chacun d'eux précipite à haute dilution par le sérum antibactérien préparé en injectant à l'animal le pneumocoque du type considéré, et il ne précipite pas du tout, ou ne précipite qu'à basse dilution, par les sérums correspondant aux autres types. Le comportement sérologique des polysaccharides, vis-à-vis des sérums antibactériens, est donc exactement superposable à celui des bactéries correspondantes vis-à-vis des mêmes sérums, considérés comme agents d'agglutination. Les variantes rough du pneumocoque, qui sont dépourvues de capsule, ne livrent aucun polysaccharide comparable à ceux dont il vient d'être question et elles ne donnent naissance, chez l'animal, à aucun anticorps capable d'agir sur ces polysaccharides. Elles ne sont pas agglutinables par les anticorps correspondant aux polysaccharides des formes smooth.

On peut passer aisément d'une variante smooth à la variante rough correspondante, la bactérie perdant son polysaccharide spécifique dans la transformation. Il suffit pour cela de cultiver la bactérie en présence du sérum antibactérien répondant à son propre type. Mais comme Griffith [24] l'a montré, on peut inversement repasser de la variante rough à la variante smooth correspondante. Pour cela, on inocule à la souris la variante rough vivante, en mélange avec des bactéries smooth tuées par la chaleur. Fréquemment une septicémie mortelle s'installe et on peut alors isoler du cadavre, non pas la forme rough (qui est non virulente à l'état pur), mais la forme smooth (virulente), pourvue de son polysaccharide capsulaire caractéristique. En mettant en œuvre des bactéries smooth tuées, qui appartiennent à un type autre que celui d'où l'on a fait

dériver la forme rough, on peut aboutir à des bactéries smooth vivantes ayant exactement le type des bactéries tuées. Cela permet de réaliser le passage suivant : smooth d'un type → rough → smooth d'un autre type. Divers auteurs ont montré que la même réversion de la forme rough à la forme smooth peut s'effectuer tout aussi bien en cultivant la forme rough en présence de bactéries smooth tuées par la chaleur [25]. Il est remarquable de voir ainsi la bactérie smooth tuée imposer la spécificité de son propre polysaccharide à la bactérie vivante en voie de réversion.

Nous venons de nous étendre assez longuement sur les polysaccharides spécifiques des pneumocoques, les mieux connus de tous les polysaccharides bactériens. Mais des substances du même ordre ont été retirées de très nombreuses autres bactéries et même des levures, tout d'abord par Zinsser et Parker dès 1923 [26], puis ultérieurement par une foule d'autres auteurs. Nous ne pouvons, dans le cadre du présent Rapport, faire une étude détaillée de tous les polysaccharides spécifiques qui ont été retirés des pneumobacilles, des staphylocoques, des méningocoques, des gonocoques, des *Salmonella*, des dysentériques, des vibrions, etc. Nous renvoyons le lecteur à l'intéressante revue de Mikulaszek [27] et surtout au beau et récent traité de Bactériologie et d'Immunologie des Professeurs Topley et Wilson [28], dans lequel une large place est réservée à la structure antigénique des microbes. Contentons-nous de dire que les polysaccharides des diverses bactéries présentent, dans les réactions de précipitation par les sérum antibactériens, la même spécificité de type que révèle l'agglutination somatique des bactéries correspondantes. Nous ne ferons qu'une brève exception en faveur des *Salmonella*, qui se légitime par l'importance théorique et pratique qu'ont prises toutes les études sur la structure antigénique de ces germes.

Par diverses techniques, Furth et Landsteiner [29] ont retiré des polysaccharides de diverses *Salmonella* et ils ont montré que ces polysaccharides se comportent, à la précipitation sérologique, comme se comportent les bactéries correspondantes dans les agglutinations somatiques. La chose a été longuement confirmée par White [30], qui a donné, en outre, une méthode très commode pour la préparation de ces poly-

saccharides spécifiques (chauffage des corps bactériens en milieu faiblement acide, éloignement des cadavres bactériens par centrifugation et précipitation des polysaccharides par l'alcool). Ces mêmes auteurs ont montré que les formes rough sont caractérisées par des polysaccharides spéciaux, encore extrêmement mal étudiés, mais bien distincts des polysaccharides des formes smooth et montrant, à la précipitation, une spécificité identique à celle que révèlent les formes rough dans l'agglutination somatique. D'après White, les variantes smooth seraient porteuses à la fois du polysaccharide smooth et du polysaccharide rough, pendant que les variantes rough porteraient le seul polysaccharide rough. En réalité la situation serait encore plus complexe, et un troisième polysaccharide spécifique existerait avec les deux premiers dans les variantes smooth et rough usuelles et se présenterait seul dans certaines formes rough exceptionnelles (et encore mal connues), que White désigne par la lettre grecque ρ . Il est hautement désirable que des recherches approfondies soient consacrées à ces polysaccharides spécifiques caractéristiques des *Salmonella* rough (5).

*
* *

Résumons ce que nous venons d'exposer. Chez de très nombreuses bactéries, on rencontre des polysaccharides qui, dans les réactions de précipitation, montrent une spécificité identique à celle que révèlent les germes correspondants dans les réactions d'agglutination somatique. Il est hors de doute que les polysaccharides en question entrent dans la composition des antigènes somatiques des bactéries, au titre d'élé-

(5) Nous allons voir bientôt que les polysaccharides spécifiques forment partie intégrante des antigènes somatiques des bactéries. D'après White, les formes smooth porteraient, en superposition et en allant de la périphérie vers l'intérieur des corps bactériens, trois antigènes somatiques : smooth, rough et ρ , le premier recouvrant et masquant complètement les deux autres. Les formes rough ne possèderaient que deux antigènes : rough et ρ , le premier masquant le second. Quant aux formes ρ , elles porteraient, à leur surface, et non masqué, le seul antigène ρ . On ne peut que souhaiter que soient reprises les recherches de White sur la structure antigénique, en profondeur, des diverses variantes de *Salmonella*.

ments responsables de la spécificité de type de ces antigènes. Or, nous avons vu précédemment l'importance fondamentale des antigènes somatiques dans les phénomènes de virulence et de pouvoir vaccinant des bactéries. On peut donc s'attendre à trouver une liaison étroite entre, d'une part, la virulence et le pouvoir vaccinant des microbes et, d'autre part, la présence de polysaccharides spécifiques chez ces microbes. Il en va bien ainsi, comme l'ont montré les études poursuivies sur le pneumocoque.

Griffith [31] a démontré que seules les variantes smooth du pneumocoque sont encapsulées et que seules elles sont virulentes. Or, on sait que les capsules du pneumocoque sont constituées essentiellement par des polysaccharides spécifiques. La liaison entre capsules polysaccharidiques et virulence a été fort élégamment mise en évidence par les expériences de Avery et Dubos [32]. Ces auteurs ont trouvé une bactérie saprophyte particulière, qui a la propriété de décomposer le polysaccharide du pneumocoque III, et ils ont isolé la diastase responsable de cette décomposition. Le pneumocoque III, cultivé en présence de la diastase, ne possède plus de capsule, mais il retrouve cette dernière dès que la culture s'effectue en l'absence de la diastase. Si l'on vient à inoculer dans le péritoine des souris du pneumocoque III, en même temps qu'une certaine quantité de diastase, les animaux résistent parfaitement et l'on ne trouve, dans leur exsudat péritonéal, que des germes non encapsulés et très aisément phagocytables par les leucocytes. Les animaux témoins, inoculés avec la bactérie seule, meurent très rapidement et l'on rencontre en grand nombre, dans leur organisme, des microbes encapsulés et peu phagocytables. Le pneumocoque, qui est très résistant à la phagocytose tant que sa capsule est intacte, devient donc très sensible à cette même phagocytose dès que la capsule est détruite, ou bien, comme nous allons le voir, dès qu'elle est modifiée par fixation d'anticorps sur sa substance polysaccharidique ainsi que cela a lieu chez les animaux immunisés.

D'après Avery et ses collaborateurs [33], confirmés par de nombreux auteurs, seules les variantes de pneumocoque porteuses de polysaccharides ont un pouvoir vaccinant élevé et

seuls les anticorps capables de précipiter ces polysaccharides ont une action anti-infectieuse marquée ; en outre, la spécificité qui se manifeste dans cette immunité anti-infectieuse, d'origine active ou passive, est exactement calquée sur celle que révèlent les réactions d'agglutination des pneumocoques et les réactions de précipitation des polysaccharides spécifiques correspondants. On sait que des germes éloignés les uns des autres, dans la classification, peuvent présenter parfois d'étroites affinités — accidentelles, pourrait-on dire — dans le comportement sérologique de leurs polysaccharides spécifiques. Il en va ainsi, comme Heidelberger, Avery et Goebel [34] l'ont montré, entre le pneumocoque II et un type spécial de pneumobacille de Friedländer, le type B. Or, il est très remarquable que le sérum anti-Friedländer B ait la propriété de protéger la souris contre l'infection par le pneumocoque II, mais non contre l'infection par un autre type de pneumocoque. Bien mieux encore, Sugg et ses collaborateurs [35] ont rencontré une levure spéciale caractérisée par un polysaccharide précipitant aussi bien par le sérum antipneumococcique II que par le sérum anti-Friedländer B, et ils ont montré que la souris peut être protégée efficacement contre l'infection par le pneumocoque II, comme par le Friedländer B, en la vaccinant avec la levure en question ou en lui injectant du sérum anti-levure. Cela met parfaitement bien en évidence le rôle de premier plan que jouent antigènes polysaccharidiques typespécifiques et anticorps correspondants dans l'immunité anti-pneumococcique (6).

(6) Malgré tout, il semble possible, au moins dans certaines circonstances, de faire apparaître chez l'animal un état d'immunité limitée, valable à la fois contre tous les types de pneumocoque, et cela, soit par vaccination avec des germes smooth ou rough tués [36], soit par injection d'extraits antigéniques obtenus à partir de ces germes [37]. On ne peut, à l'heure actuelle, que formuler de prudentes hypothèses quant à l'intervention, dans ces phénomènes d'immunité au pneumocoque considéré comme une espèce, des antigènes mal connus qui sont communs aux variantes smooth et rough de tous les types de pneumocoques : substance polysaccharidique « C » de Tillett, Goebel et Avery [38] ; antigène hétérophile (antigène de Forssman) existant chez le pneumocoque comme chez d'autres bactéries, d'après Bailey et Shorb [39]. Mais rien de définitif n'a pu être obtenu, concernant l'intervention de ces substances spécifiques [40], et il semble bien, en

**

Les polysaccharides spécifiques ne sont pas antigéniques, ou bien ils ne sont doués que d'un pouvoir antigénique très inférieur à celui des bactéries d'où on les a retirés. C'est là une règle absolument générale, qui a été vérifiée sur des préparations appartenant aux germes les plus divers. Mais ici encore, les travaux les plus importants ont porté sur le pneumocoque.

Avery et ses collaborateurs [42] ont montré que les polysaccharides spécifiques du pneumocoque sont dépourvus de tout pouvoir antigénique pour le lapin, qu'on les considère sous forme de substance isolée et purifiée par voie chimique, ou qu'on les considère en mélange fort complexe (avec des protéines, etc.) dans les lysats de pneumocoque obtenus soit par action de la bile, soit par des congélations répétées. Spécifiques, mais non antigéniques, les polysaccharides apparaissent ainsi comme étant des « haptènes », selon la terminologie de Landsteiner (7).

Une très importante question se pose immédiatement : celle de la nature de l'antigène complet, tel qu'il existe dans la cellule du pneumocoque. On est conduit, tout naturellement, à penser que cet antigène doit résulter de l'union entre un polysaccharide responsable de la spécificité et un autre élément amenant avec lui le pouvoir antigénique. Le complexe résultant doit être fort fragile : il doit se décomposer dès qu'on détruit la structure cellulaire par les moyens les moins brutaux. Si l'on songe que jusqu'à ces toutes dernières années, les protéines ont été les seules substances auxquelles on ait attribué un pouvoir antigénique net, on trouvera toute naturelle l'hypothèse que Avery et Heidelberger [43] ont formulée, touchant la nature de l'antigène complet du pneumocoque.

tout état de cause, que le rôle capital reste dévolu à l'antigène polysaccharidique type-spécifique et à l'anticorps correspondant, dans les phénomènes d'immunité au pneumocoque [41].

(7) On dit souvent des antigènes « résiduels », expression assez impropre puisque les polysaccharides ne sont pas antigéniques ou ne sont au mieux que de fort mauvais antigènes.

Cette hypothèse a été résumée par les auteurs dans un élégant schéma qui est si connu qu'il nous semble superflu de le reproduire ici. Rappelons simplement que l'antigène complet est considéré comme résultant de l'union, fort fragile, entre un polysaccharide spécifique et une nucléoalbumine. Cette dernière, considérée à l'état libre, serait sérologiquement identique pour tous les types du pneumocoque (spécificité de groupe) ; en union avec le polysaccharide, elle acquerrait une spécificité nouvelle (spécificité de type) déterminée par le polysaccharide (8). L'hypothèse des auteurs américains trouve un appui très sérieux dans les beaux travaux de Landsteiner sur la spécificité des protéines artificiellement modifiées [44]. Landsteiner a travaillé sur les « azoprotéines ». Une amine aromatique, après diazotation, peut-être copulée avec une protéine pour donner une azoprotéine. Une azoprotéine est antigénique, mais elle a perdu la spécificité de l'albumine qui lui a donné naissance, pour acquérir une nouvelle spécificité, se référant uniquement à la nature chimique de l'amine utilisée. Comme on le voit, dans l'azoprotéine, c'est le constituant protéique qui est responsable du pouvoir antigénique, pendant que l'amine, non antigénique par elle-même, impose sa propre spécificité au complexe. En s'inspirant des travaux de Landsteiner, Goebel et Avery ont pu synthétiser des azoprotéines dans lesquelles la spécificité est imposée par un élément glucidique, transformé au préalable en amino-glucoside capable d'être diazoté. Ils ont montré qu'on peut obtenir ainsi des azoprotéines absolument distinctes, par leur spécificité, en copulant une même albumine soit avec le glucose, soit avec le galactose [45]. Bien mieux, par la même méthode, ils sont parvenus à copuler la globuline du sérum de cheval avec le polysaccharide du pneumocoque III et, en injectant au lapin l'azoprotéine obtenue, ils ont pu préparer un sérum capable

(8) L'expérience montre effectivement que les nucléoalbumines, telles qu'on sait les isoler des divers types de pneumocoques, donnent toutes naissance, dans l'organisme, à un seul et même anticorps (précipitine), absolument distinct des anticorps correspondant aux polysaccharides spécifiques caractéristiques des divers types. On n'a jamais pu isoler jusqu'à présent, d'aucun type de pneumocoque, une combinaison polysaccharide + nucléoalbumine, répondant à l'hypothèse d'Avery et Heidelberger.

d'agglutiner spécifiquement le pneumocoque III, de précipiter spécifiquement le polysaccharide de ce pneumocoque et de protéger spécifiquement la souris contre l'infection par le même germe [46]. Cela met en évidence, de la façon la plus claire, la possibilité, pour un antigène complet, de résulter de l'union chimique entre un polysaccharide spécifique et une albumine. En est-il bien ainsi dans la réalité ? Il serait téméraire, à l'heure actuelle de prendre parti de façon absolument ferme sur cette question. Disons cependant qu'on n'est jamais parvenu à isoler un complexe glucido-protéique antigénique bien caractérisé, à partir d'aucune bactérie, et que quelques travaux récents, dont nous allons parler bientôt, permettent d'envisager, pour l'antigène complet du pneumocoque, une structure quelque peu différente de celle qu'indiquent Avery et Heidelberger.

très petites doses, il déclenche l'établissement d'un état de résistance à l'infection par le pneumocoque I. Il se désacétyle très facilement, sous l'action des alcalis. C'est le polysaccharide désacétylé qui avait été obtenu par Heidelberger, lequel utilisait des traitements alcalins dans sa laborieuse méthode de purification. Le polysaccharide désacétylé n'absorbe qu'incomplètement les anticorps type-spécifiques correspondant au pneumocoque I (un résidu est laissé qui n'est absorbable que par le dérivé acétylé) ; de plus il est absolument dépourvu de pouvoir antigénique tant pour la souris que pour le lapin. Il est remarquable de trouver une telle différence de comportement entre le lapin et la souris, quant à leur pouvoir de s'immuniser avec une même préparation, le polysaccharide acétylé. On doit se demander comment l'homme peut réagir à l'injection des polysaccharides spécifiques du pneumocoque. Peu d'expériences ont été effectuées sur cette question. Il a été montré pourtant qu'une immunisation est possible, avec production dans le sang d'anticorps type-spécifiques, par injection intradermique de très petites quantités de polysaccharides du pneumocoque [49] ; dans le cas particulier du pneumocoque I, Francis [50] a conclu que le polysaccharide est actif aussi bien sous sa forme désacétylée que sous sa forme acétylée. Diverses recherches récentes ont pleinement confirmé l'existence de différences très marquées dans la capacité des diverses espèces animales de s'immuniser avec les polysaccharides du pneumocoque [51].

On ne peut donc plus considérer les polysaccharides spécifiques du pneumocoque comme étant dépourvus, en toutes circonstances, de tout pouvoir antigénique. Cependant, lorsqu'une action antigénique se manifeste, comme dans le cas du dérivé acétylé dont il a été question plus haut, elle reste très contingente : elle ne s'exerce que chez certaines espèces animales et cela à condition qu'une dose et un mode d'inoculation convenables soient mis en œuvre (9). De plus, elle semble bien rester assez limitée dans sa puissance. On est loin de

(9) Rappelons que dans le cas du dérivé acétylé du pneumocoque I, l'action vaccinante chez la souris ne se produit que lorsqu'on utilise de très petites doses. Avec de fortes doses, on sensibilise l'animal à l'infection au lieu de l'immuniser !

cette immunisation énergique, qui s'installe chez toutes les espèces animales et sans précautions spéciales, lorsqu'on pratique des vaccinations au moyen de bactéries tuées par la chaleur. Il n'y a pas de doute que les polysaccharides — même sous la forme acétylée — ne sauraient être identifiés aux antigènes somatiques complets du pneumocoque. Faut-il donc nécessairement en revenir à la conception d'Avery et Heidelberger et envisager les antigènes complets du pneumocoque comme formés par la combinaison de polysaccharides (acétylés) avec des protéines ? Des recherches toutes récentes et d'un haut intérêt, dues à Dubos [52], semblent permettre de chercher ailleurs une explication de la structure de l'antigène complet.

Sous l'action d'une polynucléotidase (attaquant l'acide zymonucléique), présente à la fois dans les autolysats du pneumocoque et dans les tissus animaux, le pneumocoque I tué par la chaleur perd rapidement son caractère de germe à Gram positif, tout en gardant sa morphologie apparente. En même temps, la bactérie perd tout pouvoir antigénique pour le lapin, mais elle conserve une certaine action antigénique chez la souris. Il y a tout lieu de penser que l'antigène complet du pneumocoque se détruit au cours de l'action diastasique, avec libération du polysaccharide acétylé correspondant. Cela conduit à envisager l'antigène complet en question comme résultant d'une certaine union entre le polysaccharide spécifique et la matière nucléique responsable de la coloration de Gram (10). Dans des études toutes récentes, Downie et aussi Felton et Kauffmann [53] ont rencontré des faits intéressants, en traitant avec ménagement les pneumocoques par des acides dilués (CIH par exemple) ; les cadavres bactériens restent antigéniques pour le lapin comme pour la souris, mais les extraits acides, débarrassés de toute cellule, ne contiennent plus que des polysaccharides antigéniques pour la souris mais non pour le lapin. Cela conduit à se demander si l'antigène complet ne

(10) Cette matière nucléique, sensible à la polynucléotidase, et dont la disparition abolit la colorabilité du pneumocoque dans la méthode de Gram, existe chez les variantes rough comme chez les variantes smooth ; dans le premier cas, elle est sans doute libre de toute liaison avec des polysaccharides.

résulterait pas d'une simple union physico-chimique, par adsorption, entre le polysaccharide et un élément constituant de la surface bactérienne, acide nucléique ou nucléoalbumine. L'hypothèse trouve quelque appui dans les travaux de Zozaya [54]. Cet auteur a montré, en effet, que des polysaccharides microbiens, non antigéniques lorsqu'ils sont employés en simple solution, deviennent antigéniques lorsqu'on les injecte à l'animal adsorbés à la surface de particules inertes de collodium, de charbon, etc. On entrevoit une explication possible de ces faits : les particules chargées de polysaccharides seraient aisément phagocytées par les cellules du système réticulo-endothélial responsables, semble-t-il bien, de la formation des anticorps, alors que les molécules libres de polysaccharides, malgré leur taille déjà très grande, ne seraient pas capables d'être appréhendées par les mêmes cellules et ne pourraient pas inciter ces cellules à produire des anticorps. Il va sans dire que nous ne donnons cette explication qu'avec beaucoup de réserves.

En résumé, malgré tant d'efforts dépensés pour arracher au pneumocoque le secret de son antigène complet, on n'est pas encore parvenu à pouvoir préciser, de façon sûre, la nature de cet antigène, ni à l'isoler à l'état intact de la cellule qui le porte. Il en va exactement de même chez toutes les autres bactéries à Gram positif qui ont été étudiées de ce point de vue et qui n'ont fourni que des polysaccharides libres et peu ou pas antigéniques. Comme nous allons le voir bientôt, il en est tout autrement en ce qui concerne les bactéries à Gram négatif, chez lesquelles Boivin et ses collaborateurs ont pu isoler l'antigène complet et en préciser la nature chimique : il s'agit d'une substance glucido-lipidique (elle résulte essentiellement de l'union entre un polysaccharide spécifique et des acides gras) qui, à l'état isolé, se montre aussi puissamment antigénique que la bactérie d'où elle provient, et cela pour toutes les espèces animales. Aucune trace d'un tel antigène glucido-lipidique n'a pu être isolée d'aucune bactérie à Gram positif. Nous allons consacrer le prochain chapitre de ce Rapport à l'étude de ces antigènes glucido-lipidiques.

*
**

Après ce que nous avons exposé concernant les antigènes polysaccharidiques du pneumocoque et après ce que nous venons de laisser entrevoir, touchant les antigènes glucido-lipidiques des bactéries à Gram négatif, on pourrait être tenté de croire qu'en toutes circonstances ce sont des corps glucidiques qui déterminent la spécificité des antigènes somatiques des bactéries. L'exemple du streptocoque et celui du bacille du charbon vont nous montrer qu'il n'en est pas toujours ainsi et que certaines protéines peuvent parfois jouer un rôle de premier plan dans la constitution des antigènes portés par les corps bactériens. L'exemple du bacille tuberculeux montre, d'autre part, des lipides capables de jouer le même rôle.

De très nombreux travaux ont été consacrés à la structure antigénique des streptocoques hémolytiques, dont on trouvera un résumé dans la revue récente de Sherman [55]. Par agglutination, on peut distinguer un très grand nombre de types : Griffith [56] n'en a pas rencontré moins de 27 parmi les streptocoques d'origine humaine. Miss Lancefield [57] a attaqué, sous un angle différent, le problème de la classification sérologique des streptocoques. Elle a préparé des extraits bactériens, qu'elle a soumis à la précipitation par des sérum s antibactériens. Elle a pu distinguer tout d'abord des groupes (on les désigne actuellement par des lettres, de A à K) dont chacun est caractérisé par un haptène particulier (spécifique du groupe). Les groupes se subdivisent en de nombreux types, chaque type ayant son haptène spécial (spécifique du type). Le groupe le mieux étudié est le groupe A, qui renferme presque toutes les souches d'origine humaine. D'après Lancefield, dans ce groupe A l'haptène de groupe est de nature polysaccharidique, tandis que les haptènes de type sont de nature protéique. Stamp et Hendry [58] ont pu obtenir, à partir des streptocoques, des fractions antigéniques qui sont de nature protéique et qui permettent de vacciner spécifiquement les animaux contre l'infection par les bactéries correspondantes. Mais particulièrement importantes, dans cette direction, sont les recherches de Mudd et de ses collabora-

teurs [59]. Ces auteurs ont isolé du streptocoque A un « antigène labile », de nature protéique et qui, injecté à l'animal, provoque l'apparition d'un anticorps type-spécifique, doué de pouvoir agglutinant et capable tout à la fois de sensibiliser à la phagocytose la bactérie correspondante et de vacciner la souris contre l'infection par cette bactérie. Mais chose curieuse, le même anticorps précipite de leur solution les antigènes labiles de tous les types appartenant au même groupe A. De plus, la molécule de l'antigène apparaît comme portant à la fois les deux groupements chimiques responsables, l'un de la spécificité de type et l'autre de la spécificité de groupe, car soumise à l'hydrolyse acide ménagée, elle libère à la fois les deux haptènes de Lancefield (41). On peut penser qu'à la surface de la bactérie, l'antigène est orienté de telle façon que seul le groupement type-spécifique soit actif, alors qu'en solution les deux groupements peuvent manifester également bien leur activité. Ajoutons que l'antigène de Mudd mérite bien son qualificatif de labile : soumis à une oxydation ménagée, il perd la propriété de se combiner à l'anticorps correspondant, mais récupère cette propriété par réduction.

Le *Bacillus anthracis* porte, à côté d'un antigène polysaccharidique, un antigène protéique qui forme la capsule du germe. Ivanovics [61] vient d'obtenir l'haptène correspondant à cet antigène capsulaire, sous la forme d'un polypeptide de l'acide glutamique lévogyre. Ici encore, on voit donc un important antigène bactérien ne rien devoir de sa spécificité à des matières glucidiques.

Malgré un très grand nombre de travaux, l'immunochimie du bacille tuberculeux est chose encore fort mal connue [62]. Il est hors de doute que des polysaccharides et que des protéines jouent un rôle important parmi les substances spécifiques de cette bactérie. En ce qui concerne les polysaccharides, citons les travaux, d'orientation surtout chimique, de Heidel-

(11) Une situation quelque peu comparable se présente chez les pneumocoques, si vraiment, comme le pense Sevag [60], le polysaccharide spécifique de chaque type forme, au sein de l'antigène complet, une combinaison chimique fragile avec un polysaccharide commun à tous les types, c'est-à-dire avec cette substance « C » de Tillett, dont nous avons déjà eu l'occasion de parler un peu plus haut.

berger et Menzel [63] et ceux, plus spécialement immunologiques, de Schlossmann et de Ionesco-Mihaiesti et ses collaborateurs [64]. D'après ces derniers auteurs, les polysaccharides des trois types : humain, bovin et aviaire se distinguaient par leur spécificité et cela offrirait la possibilité, très intéressante du point de vue épidémiologique, de préciser, par des intradermo-réactions, le type des bacilles infectants dans les tuberculoses humaines et animales. Mais, à côté de cela, les lipides semblent jouer un très grand rôle dans l'immuno-chimie des bacilles tuberculeux. Tout d'abord, comme Anderson et Sabin l'ont montré, c'est à des phosphatides spéciaux (renfermant un acide gras particulier, l'acide phthioïque) que les bacilles tuberculeux morts et vivants doivent leur propriété d'engendrer chez l'animal cette lésion si caractéristique qu'est le tubercule [65]. Mais encore, ainsi que Macheboeuf et ses collaborateurs l'ont indiqué [66], les bacilles acido-résistants renferment des lipides particuliers : acides inosito-phosphatidiques et peut-être acides glycéro-phosphatidiques, jouant le rôle d'haptènes. Nous ne pouvons malheureusement pas, dans le cadre du présent Rapport, donner à la question des antigènes du bacille tuberculeux tout le développement qu'elle mériteraît, par sa double importance théorique et pratique.

LES ANTIGÈNES GLUCIDO-LIPIDIQUES.

Existence des antigènes glucido-lipidiques chez les bactéries à Gram négatif.

Les antigènes glucido-lipidiques ont été découverts à Bucarest, en 1933, par Boivin, Mesrobeanu et Mesrobeanu et ils ont été retrouvés, presque aussitôt, à Londres, par Raistrick et Topley [67]. Les uns et les autres de ces auteurs ont montré que l'antigène glucido-lipidique d'une bactérie représente à la fois l'antigène O complet et l'endotoxine de cette bactérie. Au cours de recherches poursuivies depuis lors, par Boivin et ses collaborateurs et par d'autres auteurs, des antigènes glucido-lipidiques ont été retirés de nombreuses bactéries appartenant toutes au grand groupe des germes à Gram négatif : *Salmonella* (typhique, paratyphiques A, B et C, Aertrycke, Gärtner, etc.),

colibacilles, dysentériques (Shiga, Flexner), *Proteus* [68], pyocyaniques, vibrions, pneumobacilles, *Pasteurella* [69], *Bacillus* [70], méningocoques [71], etc. Par contre, Boivin et ses collaborateurs et d'autres auteurs ont étudié de nombreuses bactéries à Gram positif : pneumocoques, staphylocoques, streptocoques, *B.* diptérique, *B.* du charbon, *B.* tuberculeux [72], anaérobies de la gangrène gazeuse [73], etc., dont aucune n'a pu fournir la moindre trace d'un antigène glucido-lipidique. Toutes ces bactéries à Gram positif n'ont livré que des polysaccharides spécifiques libres de toute liaison lipidique et dépourvus du pouvoir d'engendrer des anticorps chez l'animal. Il y a tout lieu de penser que l'antigène O complet des bactéries à Gram positif n'a pas une structure glucido-lipidique. Nous avons vu plus haut quelles sont les hypothèses qui peuvent être formulées quant à la structure d'un tel antigène. La vieille classification, toute empirique, des bactéries, en germes à Gram positif et en germes à Gram négatif apparaît donc comme ayant une importante signification quant à la constitution antigénique des microbes [74].

L'expérience montre qu'on rencontre, chez une même espèce bactérienne à Gram négatif, des variantes qui renferment un antigène glucido-lipidique et des variantes qui en sont dépourvues (12). Très fréquemment les premières donnent sur gélose des colonies lisses et sur bouillon des cultures homogènes (formes smooth), pendant que les secondes donnent des colonies rugueuses et une culture en dépôt sur bouillon (formes rough). C'est dire qu'on retrouve la règle classique qui attribue un antigène O aux seules formes smooth. Mais cette règle est sujette cependant à d'assez nombreuses exceptions et on ne saurait conclure, à coup sûr, de l'aspect des cultures à la structure antigénique des bactéries [75].

(12) Il en résulte que la présence ou que l'absence, dans une bactérie, d'un antigène glucido-lipidique ne peut pas conditionner directement le comportement de cette bactérie dans la coloration de Gram.

*Préparation et constitution chimique
des antigènes glucido-lipidiques.*

Pour isoler un antigène glucido-lipidique à partir des corps bactériens qui le renferment, il existe trois méthodes : celle de Boivin et ses collaborateurs, à l'acide trichloracétique (1933), celle de Raistrick et Topley, à la trypsine (1934), et, enfin, celle de Morgan, au diéthylène-glycol (1937) [76]. Dans les trois méthodes, on s'efforce tout d'abord de séparer l'antigène glucido-lipidique d'avec les protéines des corps bactériens. Pour cela, ces protéines sont insolubilisées par l'acide trichloracétique où le diéthylène-glycol, ou bien elles sont détruites par la trypsine. Quant à l'antigène, il passe en solution et on le purifie en ayant recours à la dialyse et à des précipitations fractionnées par l'alcool ou par l'acétone. L'antigène glucido-lipidique représente souvent autour de 10 p. 100 du poids sec d'une bactérie. C'est donc, quantitativement parlant, un des constituants principaux de la cellule bactérienne.

Résumons ici les conclusions auxquelles aboutissent Boivin et Mesrobeanu [77], quant aux propriétés physiques et chimiques des antigènes qu'ils obtiennent par leur méthode à l'acide trichloracétique.

D'une préparation à l'autre de l'antigène d'une même souche bactérienne, on retrouve les mêmes propriétés biologiques et on ne note que de faibles variations dans la constitution chimique générale. Il semble donc qu'on se trouve en présence d'une substance obtenue dans un état pas trop éloigné de la pureté chimique.

Les antigènes glucido-lipidiques sont des substances solides, solubles dans l'eau en donnant des solutions légèrement opalescentes, et insolubles dans les solvants organiques comme l'alcool, l'acétone, l'éther, etc. Ce sont des corps à très grosse molécule, car ils ne dialysent pas de façon sensible, même à travers des membranes de haute perméabilité. Il s'agit d'édifices chimiques fort complexes et encore très imparfaitement connus dans leur structure détaillée, mais qui n'ont aucun rapport de constitution avec les protéines, comme le montrent bien leurs réactions générales, leur composition élémentaire

et leur parfaite résistance aux diastases protéolytiques. Un antigène résulte essentiellement de l'union d'un polysaccharide avec des acides gras et aussi avec de l'acide acétique et avec de l'acide phosphorique. Le polysaccharide est formé par la combinaison de sucres ordinaires avec des sucres aminés et, au moins dans certains cas, avec des acides « uroniques ». Les sucres aminés, dont il vient d'être question, sont responsables, au premier chef, des 2 à 3 p. 100 d'azote que contiennent les antigènes (13). D'une espèce bactérienne à l'autre, l'antigène présente une constitution quelque peu variable quant aux proportions de ses divers constituants. Les acides acétique et phosphorique ne représentent chacun que de 5 à 10 p. 100 de la molécule antigénique, alors que le polysaccharide constitue environ la moitié ou les deux tiers, et les acides gras environ le cinquième ou le quart de la même molécule. Il s'agit donc bien de combinaisons « glucido-lipidiques » fort complexes et d'un type absolument nouveau en biochimie.

En solution *neutre*, un antigène glucido-lipidique peut être chauffé à 100° pendant trente minutes à une heure, sans qu'il en résulte, en général, quelque modification appréciable dans sa constitution chimique et dans ses propriétés biologiques. Par autoclavage prolongé à 120°, il s'altère souvent, en perdant plus ou moins complètement son pouvoir antigénique. Du reste, la thermorésistance des antigènes glucido-lipidiques paraît être quelque peu variable d'un germe à l'autre. Par chauffage en milieu *acide*, un complexe glucido-lipidique se détruit rapidement. Si l'on opère en milieu faiblement acide (ac. acétique), la décomposition reste ménagée : l'antigène se clive en un précipité renfermant les acides gras et en une substance qui reste dissoute, qu'on peut précipiter par l'alcool et qui est de nature polysaccharidique. Autrement dit, les deux fractions glucidique et lipidique de la molécule se séparent. Le même clivage d'un antigène semble pouvoir s'effectuer au

(13) Une fraction de l'azote des préparations antigéniques semble provenir d'un élément polypeptidique, qui ne représente probablement qu'une trace de peptone du milieu de culture adsorbée par le complexe glucido-lipidique. Les préparations antigéniques obtenues par la méthode à l'acide trichloracétique ne donnent qu'une réaction du biuret nulle ou très faible.

cours des processus d'autolyse sous l'action d'une diastase bactérienne.

Propriétés biologiques des antigènes glucido-lipidiques.

Les antigènes glucido-lipidiques ont la propriété de précipiter spécifiquement par les sérums antibactériens correspondants, comme l'ont montré Boivin et ses collaborateurs et Raistrick et Topley [78]. Dans les sérums antibactériens, ce sont les anticorps O qui sont actifs et la spécificité qui se manifeste dans les réactions de précipitation des antigènes glucido-lipidiques est exactement calquée sur celle que révèle l'agglutination somatique des bactéries d'où proviennent ces antigènes. L'antigène glucido-lipidique porté par une bactérie à Gram négatif apparaît ainsi comme étant responsable de l'agglutination somatique de cette bactérie par l'anticorps O correspondant. C'est à la fraction polysaccharidique de sa molécule qu'un complexe glucido-lipidique doit sa spécificité. En effet, les polysaccharides qui sont mis en liberté, lorsqu'on chauffe les antigènes glucido-lipidiques avec de l'acide acétique dilué, se comportent, dans les réactions de précipitation, exactement comme le font les antigènes complets.

Comme l'ont montré Boivin et ses collaborateurs et Raistrick et Topley [78], les complexes glucido-lipidiques sont antigéniques au sens plein du terme, c'est-à-dire qu'injectés à l'animal, ils provoquent l'apparition d'anticorps, et cela bien que leur constitution chimique ne les apprenne nullement aux protéines. L'anticorps qui se forme, en réponse à l'injection d'un antigène glucido-lipidique, a la propriété de précipiter cet antigène et de donner une agglutination somatique avec la bactérie correspondante. Par sa spécificité, il s'identifie pleinement à l'anticorps O tel qu'on sait l'obtenir à l'état pur, en vaccinant un animal avec la bactérie en question, préalablement chauffée à 100° pour détruire l'antigène H. Il en résulte immédiatement que le complexe glucido-lipidique d'une bactérie à Gram négatif représente l'antigène O complet de cette bactérie. Quant aux polysaccharides spécifiques qu'on peut faire dériver des complexes glucido-lipidiques, par chauffage en milieu acétique, ils sont incapables de provoquer l'appari-

tion d'anticorps chez les animaux : ce sont les haptènes correspondant aux antigènes O complets et dérivant de ceux-ci par perte de l'élément lipidique. On s'explique très bien maintenant que la méthode classique de White [79], dans laquelle on chauffe les corps bactériens des *Salmonella* avec de l'acide acétique dilué, ne puisse conduire qu'à l'obtention d'haptènes polysaccharidiques, simples « artefacts » résultant de la décomposition des antigènes glucido-lipidiques contenus dans les bactéries.

Ainsi que nous l'avons signalé au début du présent Rapport, on admet classiquement que la présence d'antigène O, chez une bactérie, est une condition nécessaire — sinon toujours suffisante — pour la virulence de cette bactérie. On peut donc s'attendre à trouver, en règle générale, une virulence plus grande chez les variantes pourvues d'antigène glucido-lipidique que chez celles qui en sont dépourvues, et Boivin et Mesrobeanu [80] ont montré qu'il en va bien ainsi.

De même, les immunologistes admettent classiquement, comme nous l'avons dit plus haut, que c'est l'antigène O qui représente le substratum fondamental du pouvoir vaccinant d'une bactérie et que c'est à l'anticorps O qu'un sérum antibactérien doit l'essentiel de son pouvoir anti-infectieux. On doit donc s'attendre à voir les antigènes glucido-lipidiques être doués de pouvoir vaccinant et à trouver une action anti-infectieuse aux anticorps correspondants. Il en va bien ainsi, comme Raistrick et Topley et comme Boivin et ses collaborateurs l'ont montré [81], dès le début de leurs études sur les antigènes glucido-lipidiques. Une vaccination prolongée avec un antigène glucido-lipidique donné permet aux animaux de résister à l'infection expérimentale par un nombre de bactéries vivantes représentant des centaines de fois la dose mortelle pour les témoins. La spécificité qui se révèle dans ces phénomènes d'immunité anti-infectieuse est exactement calquée sur celle que montrent, *in vitro*, les réactions de précipitation des antigènes glucido-lipidiques et les réactions d'agglutination somatique des bactéries correspondantes. En veut-on un exemple ? Boivin et Mesrobeanu [82] ont montré que des souris vaccinées soit avec l'antigène glucido-lipidique du *B. d'Aertrycke*, soit avec celui du *B. paratyphique B* résistent également bien à

l'infection par un B. d'Aertrycke virulent, alors que ne résistent aucunement des animaux ayant été vaccinés soit avec l'antigène du B. de Gärtner, soit avec celui du B. de Shiga. Or, l'antigène glucido-lipidique du B. d'Aertrycke précipite de la même façon par les deux anticorps O correspondant respectivement au B. d'Aertrycke et au B. paratyphique B, mais il ne précipite pas par les anticorps O correspondant soit au B. de Gärtner, soit au B. de Shiga ; et il en va exactement de même en ce qui concerne l'agglutination somatique du B. d'Aertrycke par les quatre anticorps O en question (14). Signalons que Lisbonne et ses collaborateurs [83] ont montré, de leur côté, que l'antigène glucido-lipidique des *Brucella* jouit de propriétés vaccinantes et la même démonstration a été faite par Pirosky, en ce qui concerne l'antigène des *Pasteurella* [84].

En résumé, les complexes glucido-lipidiques cumulant toutes les propriétés qu'on attribuait classiquement aux hypothétiques antigènes O complets des bactéries, s'identifient pleinement à ces antigènes.

Mais l'étude des complexes glucido-lipidiques révéla une propriété tout à fait inattendue des antigènes O : leur toxicité, qui fut découverte par Boivin et ses collaborateurs et par Rais-trick et Topley [85]. Boivin et Mesrobeanu [86] ont montré que l'antigène glucido-lipidique des bactéries à Gram négatif représente le constituant principal de l'endotoxine de ces germes. Les endotoxines classiques (comme la toxine typhique et la toxine cholérique), qui sont responsables de l'action nocive, pour l'animal, des corps bactériens tués et des autolysats microbiens, apparaissent ainsi comme étant de nature glucido-lipidique. Quant aux polysaccharides qu'on peut faire dériver des complexes glucido-lipidiques, par chauffage en milieu acétique, ils sont dépourvus de toute toxicité, comme de tout pouvoir antigénique, s'ils conservent intacte la spécificité des complexes d'où ils sont issus.

Etudions rapidement les propriétés toxiques des antigènes

(14) On sait (voir le début de ce rapport) que le B. d'Aertrycke et que le B. paratyphique B ont en commun les mêmes facteurs antigéniques O essentiels, qui n'existent ni chez le B. de Gärtner, ni chez le B. de Shiga.

glucido-lipidiques. Il convient de noter tout d'abord que les antigènes des diverses bactéries montrent sensiblement la même toxicité et qu'ils donnent lieu à des tableaux symptomatologiques et anatomo-pathologiques indistinguables entre eux. En général, une dose de l'ordre du dixième de milligramme suffit à tuer la souris, par injection dans le péritoine ou dans la veine. A l'unité de poids d'animal, le lapin est encore plus sensible. Bientôt après l'injection d'antigène, les animaux présentent de la diarrhée et aussi des troubles graves de la régulation glycémique, découverts par Delafield [87]. A l'autopsie, on remarque une importante congestion des viscères abdominaux, spécialement de l'intestin.

Lorsqu'on immunise un animal avec un antigène glucido-lipidique donné, on accroît sa résistance à la toxicité de l'antigène en question et son sérum, riche en anticorps O, devient capable de protéger un autre animal contre la toxicité du même antigène. Boivin et Mesrobeanu [88] ont montré : 1° que, tant par voie active que par voie passive, il n'est possible de protéger un animal que contre un tout petit nombre de doses mortelles d'antigène, et 2° que la spécificité qui joue dans ces phénomènes d'immunité antitoxique est exactement calquée sur celle qui se manifeste aussi bien *in vitro*, dans les réactions de précipitation des antigènes glucido-lipidiques et d'agglutination somatique des bactéries, qu'*in vivo*, dans les phénomènes d'immunité anti-infectieuse. En résumé, on est conduit à identifier, chez les bactéries à Gram négatif, d'une part l'endotoxine et l'antigène O et, d'autre part, l'antiendotoxine et l'anticorps O. De plus, on retrouve avec les antigènes glucido-lipidiques cette propriété classique des endotoxines d'être de mauvais agents immunisants antitoxiques, comparativement aux excellents agents immunisants que sont les exotoxines, comme la toxine diphtérique et la toxine téstanique.

Il est intéressant de souligner que les endotoxines des bactéries se séparent très nettement des exotoxines par leur constitution chimique. En effet, si les premières sont de nature glucido-lipidique, les secondes apparaissent comme étant de nature protéique [89]. Une telle différence dans la constitution chimique est sans doute responsable des différences qu'on relève dans le comportement des deux ordres de toxines :

Vis-à-vis de la chaleur : les endotoxines sont thermostables ; les exotoxines thermolabiles.

Vis-à-vis du formol : les endotoxines ne se détoxifient pas (15) ; les exotoxines se transforment rapidement en anatoxine (Ramon).

Vis-à-vis des anticorps correspondants : les endotoxines (antigènes O) précipitent en toutes proportions par les anticorps correspondants (anticorps O) ; les exotoxines ne précipitent que lorsqu'on réalise les proportions exactes selon lesquelles a lieu la neutralisation du poison par l'anticorps (« flocculation » de Ramon).

Il est aisément de séparer, par voie chimique, ces deux ordres de toxines si différentes par leur constitution. Boivin et ses collaborateurs [93] ont montré que l'acide trichloracétique permet d'effectuer aisément une telle séparation, ce réactif précipitant les exotoxines (et leurs anadérivés) pour laisser en solution les endotoxines glucido-lipidiques. Boivin et Mesrobeanu [94] ont appliqué cette technique à l'étude des toxines produites par le *B. de Shiga* et ils ont pu séparer et caractériser deux substances absolument distinctes : une endotoxine thermostable et entérotoxique, qui est de nature glucido-lipidique et qui s'identifie à l'antigène O de la bactérie ; une exotoxine thermolabile et

(15) Par un contact prolongé avec le formol, à 40°, les antigènes glucido-lipidiques s'altèrent peu à peu : un précipité se forme et la toxicité des préparations s'abaisse. Mais ce qui reste en solution garde, à l'unité de poids, toute la toxicité (et toutes les autres propriétés) de l'antigène d'où l'on est parti. Il ne se forme pas d'anatoxine soluble. Ces faits (résultats encore inédits de Boivin et Mesrobeanu) expliquent, au moins pour une part, que Grasset et ses collaborateurs [90] et que Reilly et ses collaborateurs [91] puissent utiliser, comme agent vaccinant, des autolysats de *B. typhique* ayant perdu beaucoup de leur toxicité sous l'action prolongée du formol : il reste sans doute, dans les préparations de ces auteurs, de petites quantités d'antigène glucido-lipidique intact, cause du pouvoir vaccinant. Au surplus, il n'est pas exclu que les protéines, contenues en abondance dans les préparations de Grasset et de Reilly, jouent un certain rôle dans la diminution de toxicité de ces préparations, sous l'action du formol. Pfeiffer et Lubinski [92] ont montré, en effet, que des corps bactériens peuvent perdre beaucoup de leur toxicité, lorsqu'on les traite par le formol, mais ils ont expliqué le phénomène en faisant appel à une action fixatrice du formol sur les protéines bactériennes, retardant la résorption de ces protéines et retardant aussi, par contre-coup, la diffusion de l'endotoxine microbienne dans l'organisme.

neurotrophe (paralysante), qui est de nature protéique. L'endotoxine des corps bactériens se libère lentement dans le milieu, au cours des phénomènes d'autolyse et on en trouve des quantités plus ou moins grandes dans les filtrats des vieilles cultures sur bouillon. L'exotoxine, qui se rencontre en abondance dans les filtrats, existe également dans les corps bactériens tout jeunes ; elle semble même se former là, pour passer ensuite dans le milieu ambiant. Ainsi donc, les deux toxines se rencontrent en mélange dans les corps bactériens, dans les autolysats des corps bactériens comme dans les filtrats des cultures sur bouillon. On voit tout l'intérêt de la méthode à l'acide trichloracétique, qui permet d'effectuer leur séparation. L'essentiel des conclusions de Boivin et Mesrobeau, en ce qui concerne les toxines et antigènes du *B. de Shiga*, a été bientôt confirmé par divers auteurs : Haas, Morgan, Checcacci et Istrati [95].

Le pouvoir vaccinant anti-infectieux et antiendotoxique d'une bactérie tuée dépend, dans une large mesure tout au moins, du contenu de cette bactérie en antigène glucido-lipidique (antigène O), contenu qui peut être l'objet d'un dosage chimique suffisamment précis. Il ne nous paraît nullement téméraire de penser que, dans un avenir prochain, les antigènes glucido-lipidiques, isolés et purifiés par voie chimique, se substitueront, dans les vaccins, aux corps bactériens tués, dans la même mesure, par exemple, que des vitamines et que des hormones, isolées à l'état de composés chimiques, se sont déjà substituées, en thérapeutique, à l'huile de foie de morue et aux poudres d'organes. Mais, tandis qu'on a pu préparer déjà, par synthèse, un certain nombre de vitamines et d'hormones, corps à molécules relativement simples, on ne parviendra vraisemblablement pas, avant longtemps, à synthétiser la molécule extrêmement complexe des antigènes glucido-lipidiques et on devra se contenter alors de retirer ces antigènes des bactéries qui les renferment et de les purifier le mieux possible.

LA QUESTION DE L'ANTIGÈNE Vi DU BACILLE TYPHIQUE.

Des recherches récentes, dues avant tout à Felix, ont semblé indiquer que ce ne serait pas l'antigène O du *B. typhique*, mais un autre antigène somatique, l'antigène Vi, qui jouerait le rôle de premier plan dans la virulence et dans le pouvoir vaccinant de la bactérie. Par là même, le *B. typhique* se comporterait tout autrement que la grande majorité des microbes. Comme on va le voir, l'exception à la règle est plus apparente que réelle, car l'antigène Vi est chimiquement et biologiquement très voisin de l'antigène O proprement dit du *B. typhique*, cette bactérie portant à la fois deux antigènes glucido-lipidiques distincts, intervenant tous les deux dans la virulence et dans le pouvoir vaccinant. Tant à cause de son intérêt théorique qu'à cause de sa grande importance pratique, pour la vaccination antityphoïdique, la question de l'antigène Vi nous paraît mériter qu'on lui consacre une place notable dans le présent Rapport.

On sait, depuis les recherches de Grinnell [96], que parmi les souches de *B. typhique* capables d'engendrer chez l'animal l'anticorps O, et renfermant par là même l'antigène O, certaines sont douées à la fois d'une virulence marquée et d'un pouvoir vaccinant élevé pour la souris, pendant que les autres sont de basse virulence et de faible pouvoir vaccinant. Felix et ses collaborateurs [97] ont découvert que les souches virulentes et vaccinantes dont il vient d'être question, sont inagglutinables par l'anticorps O, alors que les souches non virulentes et non vaccinantes sont normalement agglutinées par le même anticorps. Un certain facteur d'inhibition vient donc entraver l'union de l'anticorps O avec l'antigène O porté par les formes virulentes. Fait du plus haut intérêt, ce facteur s'est révélé à Felix comme étant un antigène somatique, distinct de l'antigène O : l'antigène de virulence ou, en abrégé, l'antigène Vi, capable d'engendrer dans l'organisme l'anticorps correspondant ou anticorps Vi, absolument distinct de l'anticorps O. Les variantes virulentes et vaccinantes sont pourvues à la fois des deux antigènes O et Vi ; elles sont inagglutinables par l'anticorps O et agglutinables par l'anticorps Vi, mais deviennent

agglutinables par l'anticorps O et inagglutinables par l'anticorps Vi après chauffage des corps bactériens à 55° et surtout à 100°. On peut penser que l'antigène Vi, thermolabile, forme à la surface des bactéries une sorte d'enveloppe protectrice autour de l'antigène O, thermostable. Quant aux variantes qui ne renferment que l'un des deux antigènes, elles sont toutes de basse virulence, ce qui conduit à penser que la virulence se trouve liée à la présence simultanée, dans la bactérie, des deux antigènes en question. Mais, par contre, d'après Felix, le pouvoir vaccinant des corps bactériens dépendrait essentiellement de l'antigène Vi et non pas de l'antigène O, et le pouvoir anti-infectieux d'un sérum dépendrait, de même, de l'anticorps Vi et non pas de l'anticorps O. Il en résulte que les variantes renfermant seulement de l'antigène Vi sont douées de pouvoir vaccinant, contrairement à ce qui a lieu pour les variantes portant seulement de l'antigène O. Il nous paraît expressif de désigner par les symboles [O + Vi], [O] et [Vi] les variantes qui renferment soit les deux antigènes, soit l'un d'eux seulement, et c'est cette nomenclature que nous allons utiliser dans la suite de notre exposé (16).

Les beaux travaux de Felix ont été repris par de nombreux auteurs, au premier rang desquels il convient de citer Kauffmann [98]. C'est ainsi que ce dernier auteur est pleinement d'accord avec Felix pour attribuer au seul antigène Vi un pouvoir vaccinant efficace et au seul anticorps Vi une action anti-infectieuse marquée. Mais Felix et Kauffmann diffèrent quant à l'explication qu'ils donnent du pouvoir pathogénique élevé des formes [O + Vi]. En effet, pour le premier auteur, l'antigène Vi exalte le pouvoir de multiplication de la bactérie dans l'organisme infecté, tandis que pour le second, il agit comme un élément hautement toxique. Nous verrons plus loin quelle relation Boivin et Mesrobeanu ont pu établir entre les anti-

(16) On rencontre très souvent, dans la littérature, une nomenclature due à Kauffmann et selon laquelle la lettre V désigne les variantes pourvues à la fois d'antigène O et d'antigène Vi, pendant que la lettre W désigne les variantes portant seulement l'antigène O. Rien, dans cette nomenclature, ne concerne les formes pourvues seulement d'antigène Vi et c'est la raison pour laquelle nous ne l'emploierons pas ici.

gènes O et Vi d'une part, et l'endotoxine du *B. typhique* d'autre part, et il apparaîtra alors que cette relation ne parle pas en faveur de l'hypothèse de Kauffmann.

Felix et Kauffmann n'ont guère utilisé, dans leurs expériences, que des corps bactériens totaux. Mais divers auteurs se sont efforcés d'isoler les deux antigènes du *B. typhique*. En 1934, Boivin et ses collaborateurs [99] ont découvert la nature glucido-lipidique de l'antigène O du *B. typhique*. En 1937, Topley, Raistrick et leurs collaborateurs [100], mettant en œuvre la méthode à la trypsine, ont obtenu, à partir des variantes [O] et [O + Vi] des préparations antigéniques différente entre elles par certaines de leurs propriétés chimiques, en particulier par leur précipitabilité par les sels d'uranyle. Le sérum des lapins immunisés avec la préparation [O] ne renferme que l'anticorps O ; celui des lapins immunisés avec la préparation [O + Vi] renferme, semble-t-il, de petites quantités d'anticorps Vi en adjonction à l'anticorps O. Ces deux sérums apparaissent comme étant également capables de protéger la souris contre l'infection par le *B. d'Eberth* virulent. De même, du moins lorsqu'on met en œuvre une immunisation suffisamment prolongée, les deux préparations antigéniques en question s'avèrent comme étant également capables de vacciner la souris contre l'infection éberthienne. Peu après les recherches de Topley, Giovanardi [101], puis Combiesco, Combiesco et Soru [102], appliquant à une souche [O + Vi] la technique à l'acide trichloracétique, ont obtenu un extrait précipitant à la fois par les anticorps O et Vi et semblant renfermer à la fois, par conséquent, les deux antigènes O et Vi. Tout récemment enfin, Henderson et Morgan [103], travaillant sur les variantes [O] et [Vi], par la méthode au glycol, ont obtenu des préparations respectivement capables d'engendrer chez le lapin l'anticorps O et l'anticorps Vi et susceptibles, toutes deux, d'immuniser énergiquement la souris contre l'infection par une souche virulente, du type [O + Vi]. Ainsi donc, les trois méthodes actuellement connues pour la préparation des antigènes glucido-lipidiques (à l'acide trichloracétique, à la trypsine et au glycol) semblent également susceptibles de permettre d'extraire des corps bactériens du *B. typhique* aussi bien l'antigène Vi que l'antigène O. Il restait à préciser la nature chi-

mique de l'antigène Vi, tâche à laquelle se sont employés Boivin et Mesrobeanu [104], dans des publications toutes récentes. Ces auteurs ont appliqué leur méthode à l'acide trichloracétique aux trois variantes [O], [Vi] et [O + Vi] et voici leurs conclusions essentielles, touchant la constitution chimique et les propriétés biologiques de l'antigène Vi.

L'antigène Vi est, au même titre que l'antigène O du *B. typhique*, de nature glucido-lipidique. Les deux complexes glucido-lipidiques O et Vi diffèrent entre eux par leur teneur en sucres et en acides gras et par leur comportement vis-à-vis de certains réactifs comme les sels d'uranyle, qui précipitent le second en laissant le premier en solution. L'acétate d'uranyle permet de séparer les deux antigènes O et Vi, par voie chimique, lorsqu'ils se trouvent en mélange, comme cela a lieu dans les extraits trichloracétiques des formes [O + Vi]. Ces deux antigènes glucido-lipidiques donnent naissance, dans l'organisme, à deux anticorps qui, par leurs propriétés agglutinantes, s'identifient respectivement aux anticorps O et Vi, tels qu'on les rencontre dans les sérums antibactériens. Bien entendu, chacun de ces anticorps ne précipite que l'antigène glucido-lipidique correspondant. Les deux antigènes O et Vi s'avèrent comme étant également capables de vacciner la souris contre l'infection par une forme virulente du type [O + Vi] [105]. Il est curieux de souligner que tous les auteurs qui ont mis en œuvre des préparations antigéniques obtenues par voie chimique à partir du *B. typhique* (Topley et ses collaborateurs, Henderson et Morgan, Boivin et Mesrobeanu), concluent à l'efficacité comparable des antigènes O et Vi dans la vaccination de la souris. Le désaccord est complet avec les conclusions de Felix et de Kauffmann qui, travaillant avec des bactéries totales, dénient à l'antigène O tout pouvoir vaccinant vraiment sérieux. Nous ne voyons guère la possibilité, à l'heure actuelle, de donner une explication quelque peu solide d'un tel désaccord. Enfin, d'après Boivin et Mesrobeanu, et contrairement à ce qui a été soutenu par Henderson et Morgan, les deux antigènes O et Vi du *B. typhique* sont toxiques tous les deux, le premier l'étant environ cinq fois plus que le second, à poids égal. De plus, la toxicité de chacun de ces antigènes n'est neutralisée que par l'anticorps correspondant [106].

Ainsi donc, tant par sa constitution chimique que par ses propriétés biologiques, l'antigène Vi du *B. typhique* se rapproche beaucoup des antigènes O portés par le *B. typhique* lui-même et par les autres bactéries à Gram négatif (17). Il convient, semble-t-il, de ne plus continuer à placer les deux antigènes somatiques du *B. typhique* dans deux classes distinctes, mais de les ranger côté à côté, dans un même groupe, celui des antigènes O des bactéries, au sens large du terme. Comme on le voit, le *B. typhique* se distingue de la grande majorité des autres bactéries à Gram négatif, en ce qu'il peut porter à la fois deux antigènes glucido-lipidiques distincts par leur spécificité (18). Ces deux antigènes constituent au total l'endotoxine du *B. typhique*; leur présence à tous les deux est nécessaire pour la virulence du germe, mais chacun d'eux, considéré à l'état isolé, semble être doué d'un pouvoir vaccinant comparable à celui de l'antigène glucido-lipidique unique qui existe chez la plupart des bactéries. Il y a lieu de croire que les deux antigènes somatiques du *B. typhique* occupent la surface de la cellule bactérienne. On peut alors penser que la fixation, sur un seul de ces deux antigènes, de l'anticorps correspondant, altère suffisamment les conditions superficielles de la bactérie pour la rendre très sensible aux moyens de défense dont dispose l'organisme (phagocytose, etc.). Ainsi se

(17) L'antigène Vi, isolé en complexe glucido-lipidique, est thermostable au même titre que les autres antigènes glucido-lipidiques : après chauffage à 100°, en milieu neutre, il reste capable de précipiter spécifiquement par l'anticorps Vi, d'engendrer cet anticorps chez l'animal, et il garde sa toxicité (recherches inédites de Boivin et Mesrobeanu). Pourtant, d'après Felix et d'après Kauffmann, l'antigène Vi apparaît comme étant thermolabile, lorsqu'il est fixé aux corps bactériens. En effet, ceux-ci deviennent incapables, après chauffage, d'être agglutinés par l'anticorps Vi et d'engendrer cet anticorps chez le lapin. La raison d'une telle différence dans le comportement d'un même antigène, selon qu'il est libre ou qu'il est porté par les bactéries, nous échappe complètement à l'heure actuelle.

(18) Nous admettons ici que l'antigène O d'une bactérie à Gram négatif est constitué, en règle très générale, par un complexe glucido-lipidique unique, susceptible de porter à la fois tous les facteurs antigéniques de cette bactérie. Il faut convenir pourtant, qu'en l'état actuel de la question, cette vue ne saurait être considérée comme répondant à une certitude absolue. S'il venait à être démontré qu'à chaque facteur antigénique correspond un complexe glucido-lipidique distinct, le cas du *B. typhique* perdrat aussitôt tout caractère exceptionnel.

trouve expliquée la résistance qu'oppose à l'infection par une forme [O + Vi] un organisme vacciné soit avec le seul antigène O, soit avec le seul antigène Vi. Quoi qu'il en soit, il nous paraît tout à fait indiqué, en l'état actuel de la question, de demander aux vaccins antityphoïdiques (bactéries tuées ou préparations antigéniques) de renfermer à la fois les deux antigènes glucido-lipidiques du *B. typhique*, pour que se trouve portée au maximum la double action immunisante anti infectieuse et antiendotoxique.

Notons, pour terminer, que le *B. typhique* n'est pas la seule bactérie susceptible de renfermer côté à côté deux antigènes glucido-lipidiques distincts par leur spécificité. Kauffmann a découvert [107] qu'un antigène sérologiquement identique à l'antigène Vi du *B. typhique* existe chez certaines souches de *B. paratyphique C*, sans du reste que sa présence ou que son absence ait quelque retentissement sur l'agglutinabilité par l'anticorps O et sur la virulence des bactéries. Rouchdi [108] vient de montrer qu'ici encore, on se trouve en présence de deux antigènes glucido-lipidiques distincts (O et Vi), séparables par l'uranyle comme dans le cas du *B. typhique*. Enfin Pirosky [109] a trouvé une situation analogue chez une souche particulière de *Pasteurella aviseptica*, qui est susceptible, elle aussi, de fournir à côté de son antigène O ordinaire un second antigène glucido-lipidique, sérologiquement identique à l'antigène Vi du *B. typhique* et précipitable, comme ce dernier, par les sels d'uranyle. Cependant, comme Rouchdi l'a montré, on ne saurait aucunement faire de la précipitabilité par l'uranyle d'un antigène glucido-lipidique, un critérium de son équivalence sérologique avec l'antigène Vi du *B. typhique*.

DEUXIÈME PARTIE

LES ANTIGÈNES FLAGELLAIRES DES BACTÉRIES

Une expérience simple permet de mettre en évidence, chez les bactéries flagellées, l'existence d'un antigène spécial, l'antigène H, bien distinct des antigènes somatiques et auquel

correspond un anticorps doué d'un énergique pouvoir agglutinant, l'anticorps H. Préparons un sérum antibactérien, en immunisant un animal avec un microbe flagellé tué à 55°, puis éliminons de ce sérum la totalité des anticorps somatiques, en les absorbant par des corps bactériens chauffés à 100°. Le sérum ainsi traité garde un pouvoir agglutinant marqué, dû à l'anticorps H.

Jusqu'à présent, on n'a pas pu préciser la nature chimique de cet antigène H. Contrairement aux antigènes somatiques, il est labile. Des bactéries chauffées à 100°, ou traitées par l'alcool deviennent incapables à la fois d'engendrer chez l'animal l'anticorps H et de s'agglutiner sous l'action du même anticorps. L'indépendance des deux antigènes H et O est complète. En effet, chez une même espèce bactérienne, on peut rencontrer des variantes qui renferment les deux antigènes à la fois, alors que d'autres ne portent que l'un d'eux seulement, soit H soit O, et que d'autres enfin ne possèdent ni l'un ni l'autre de ces antigènes.

Comme on va le voir, l'antigène H est porté par les flagellés. Remarquons tout d'abord que seules les variantes flagellées sont agglutinées par l'anticorps H et que seules elles donnent naissance à cet anticorps, dans l'organisme. Mais l'argument vraiment décisif est amené par les expériences d'Orcutt [110]. En effet, cet auteur a pu obtenir des suspensions de flagelles libres, dépourvues de corps bactériens, en soumettant les bactéries tout d'abord à une agitation mécanique prolongée, puis ensuite à des centrifugations fractionnées. De telles suspensions de flagelles donnent une véritable agglutination avec l'anticorps H (sans réagir avec l'anticorps O) et, injectées à l'animal, elles font apparaître l'anticorps H (mais non l'anticorps O). Il est donc parfaitement légitime de parler d'antigène flagellaire, d'anticorps flagellaire et d'agglutination flagellaire, pour désigner l'antigène H, l'anticorps H et l'agglutination qui leur correspond.

Indiquons maintenant les caractères de l'agglutination flagellaire des bactéries. Pour pratiquer des réactions d'agglutination dans lesquelles intervient l'antigène H, on met en œuvre de jeunes cultures sur bouillon des variantes mobiles, stabilisées par l'adjonction d'un peu de formol. Sous l'action

de l'anticorps H, les bactéries s'agglutinent rapidement, en gros flocons se dispersant facilement par agitation. L'agglutination flagellaire s'oppose par sa rapidité et par sa puissance à l'agglutination somatique dépendant de l'anticorps O. Aussi, quand une bactérie renferme à la fois les antigènes H et O et qu'on fait agir sur elle un sérum contenant les deux anticorps correspondants, on voit, en général, l'agglutination prendre un type nettement flagellaire. Il en résulte que, lorsqu'on pratique le sérodiagnostic de Widal, selon la technique traditionnelle, en utilisant une souche de *B. typhique* renfermant en plus ou moins grande quantité les deux antigènes H et O, c'est avant tout l'anticorps H qui se trouve mis en évidence dans le sérum des malades. Dans la forme dite « moderne » de la réaction de Widal, on effectue parallèlement deux réactions d'agglutination : la première avec une souche très riche en antigène H, et la seconde avec une souche très riche en antigène O mais dépourvue d'antigène H (ou privée d'antigène H par la chaleur ou par l'alcool). Cela permet de titrer séparément l'anticorps H et l'anticorps O qui se rencontrent dans le sang du sujet (Felix). Quant à l'anticorps Vi, sa recherche n'est pas encore entrée dans la pratique courante. Nous ne pouvons nous étendre ici ni sur le détail des techniques à mettre en œuvre (19) ni sur la signification clinique des résultats qui sont obtenus dans les diverses formes de la réaction de Widal.

Nous ne pouvons rendre compte ici du détail de toutes les recherches qui ont été effectuées sur la spécificité de l'antigène H des diverses bactéries mobiles : *Salmonella*, *Proteus*, vibrions, bacilles anaérobies, etc. Nous nous bornerons à

(19) Bien entendu, la souche servant à rechercher l'anticorps O ne doit pas contenir d'antigène Vi, qui empêcherait l'union de l'anticorps O avec l'antigène O porté par la bactérie. Par contre, il est indifférent que la souche servant à la recherche de l'anticorps H renferme ou non l'antigène Vi, car ce dernier n'entrave en aucune façon l'action de l'anticorps. Pour la recherche des anticorps O et Vi, dans le sérum des malades, on pourrait probablement substituer de commodes réactions de précipitation des antigènes glucido-lipidiques O et Vi aux usuelles réactions d'agglutination. Un premier coup de sonde, jeté dans cette direction par Tulasne [111], semble donner des résultats très encourageants. .

résumer rapidement, à cause de sa grande importance théorique et pratique, ce qui a trait aux *Salmonella*. Les travaux fondamentaux sur la question sont ceux de White [112] et de Kauffmann [113]. White, mettant en œuvre des méthodes très analogues à celles qui lui ont servi dans l'étude de l'antigène O des *Salmonella*, a pu caractériser des facteurs antigéniques distincts dans l'antigène H des mêmes bactéries. Kauffmann a confirmé l'essentiel des résultats de White et il a étudié, en outre, la structure antigénique de nombreux types nouveaux de *Salmonella*. Ici encore les deux auteurs différaient quant à leur nomenclature des facteurs antigéniques. La commission internationale, dont il a été question à propos de l'antigène O, a adopté la nomenclature de Kauffmann [114]. On trouvera cette nomenclature mise en œuvre dans le tableau de la structure antigénique des *Salmonella* qui figure au début de ce Rapport et qui est reproduit de l'une des plus récentes publications de Kauffmann. Mais ce qui vient compliquer beaucoup la question de la structure de l'antigène flagellaire des *Salmonella*, c'est le fait découvert en 1922, par Andrewes [115], puis longuement étudié par White et par Kauffmann, que beaucoup de ces bactéries sont susceptibles d'exister sous des « phases » différent entre elles par la spécificité de leur antigène H.

Il est fréquent que chez une même *Salmonella*, l'antigène H soit susceptible d'exister sous deux formes bien distinctes par leur spécificité : la forme dite spécifique et la forme dite non spécifique. Considérons en bloc toutes les *Salmonella* qui présentent ce caractère. Les facteurs antigéniques de la forme spécifique, qu'on désigne par des lettres minuscules (a, b, etc.) sont particuliers à chaque type de *Salmonella*, ou ne sont communs, tout au plus, qu'à un très petit nombre de types. Au contraire, parmi les facteurs antigéniques de la forme non spécifique, qu'on désigne par des chiffres arabes (1, 2, etc.), l'un d'eux (le facteur 1) est commun à tous les types, pendant que chacun des autres est commun à de nombreux types. Les cultures de ces *Salmonella*, entretenues sur tubes de gélose, selon le mode usuel, renferment en mélange des bactéries portant exclusivement (ou presque exclusivement) de l'antigène H spécifique, et des bactéries portant exclusivement (ou presque

exclusivement) de l'antigène H non spécifique. Lorsqu'on les ensemence sur plaques de gélose, elles donnent deux sortes de colonies, indistinguables entre elles par leur morphologie, mais se différenciant par le comportement sérologique des germes qui les constituent : les uns sont formés uniquement par des germes en phase spécifique et les autres par des germes en phase non spécifique. En prélevant une parcelle d'une colonie et en effectuant des réactions d'agglutination macroscopiques rapides, sur lame, on peut préciser aisément le caractère spécifique ou non spécifique de cette colonie. Supposons que nous ayons affaire à une *Salmonella* diphasique, d'un type donné que nous appellerons X. Pour identifier ses deux phases, nous ferons appel à deux sérums antibactériens, préparés selon la méthode usuelle avec des souches de collection, l'un à partir de X et l'autre à partir d'une autre *Salmonella* diphasique quelconque, que nous appellerons Y. Le premier sérum, qui renferme l'anticorps flagellaire X spécifique et l'anticorps flagellaire non spécifique, agglutine X en phase spécifique comme X en phase non spécifique. Le second sérum, qui contient l'anticorps Y spécifique et l'anticorps non spécifique, n'agglutine seulement que X non spécifique. Comme on le voit, c'est grâce aux anticorps flagellaires du sérum hétérologue que peut se faire la distinction des phases. Une colonie ayant ainsi été identifiée, quant à la nature de son antigène H, on peut la repiquer en masse sur gélose, pour obtenir, en abondance, des germes qui soient tous en phase spécifique, ou tous en phase non spécifique, selon le cas. Mais en règle très générale, lorsqu'on pratique des repiquages successifs de la souche monphasique pure ainsi obtenue, on voit réapparaître bientôt l'autre phase, ce qui redonne l'état de chose habituel aux cultures de collection. Etant donné l'indépendance complète des antigènes O et H chez les bactéries, un germe diphasique peut présenter les 6 variantes suivantes (20) :

(20) Le signe $\uparrow\downarrow$ traduit la très grande facilité avec laquelle s'effectue la variation qui fait passer une *Salmonella* d'une phase à une autre.

	ANTIGÈNE somatique O	ANTIGÈNE flagellaire H
Smooth mobiles	{ +	Spécifique. ↓ ↑
Smooth immobile.	{ +	Non spécifique. —
Rough mobiles	{ —	Spécifique. ↓ ↑
Rough immobile	—	Non spécifique. —

Citons, parmi les bactéries qui présentent les deux phases spécifiques et non spécifiques : le B. paratyphique B, le B. paratyphique C, le B. d'Aertrycke, etc. (Voir le Tableau).

Comme Kauffmann et Mitsui [116] l'ont découvert, quelques *Salmonella* sont diphasiques d'autre façon : les deux phases doivent être considérées comme étant spécifiques toutes les deux, à cause de la nature de leurs facteurs antigéniques. On les distingue alors par les lettres grecques α et β . Il en est ainsi, en particulier, pour le B. typhique qui, selon Kauffmann [117] présente à côté des colonies α usuelles (facteur antigénique d), quelques colonies exceptionnelles β (facteur antigénique j).

D'assez nombreuses *Salmonella* sont monophasiques, en ce sens qu'on ne leur connaît qu'une phase spécifique indéfiniment stable, ne s'accompagnant d'aucune phase non spécifique : sont dans ce cas le B. paratyphique A, le B. de Gärtner, etc. D'autres *Salmonella* sont monophasiques d'une autre façon, car on ne leur connaît qu'une phase non spécifique. En réalité ce ne sont que des variétés de types habituellement diphasiques, dont la phase non spécifique s'est stabilisée. Citons, par exemple, la variété Binns du B. d'Aertrycke et la variété Kunzendorf du *suipestifer*.

Dans la classification des très nombreux types de *Salmonella* actuellement connus, la spécificité de l'antigène H joue un rôle très important, concurremment avec la spécificité de l'antigène O (voir le tableau reproduit au début de ce Rapport). Mais la formule antigénique ne suffit pas toujours pour distinguer entre elles toutes les *Salmonella*, car des types antigéniquement identiques peuvent se séparer nettement, non seulement par leur pouvoir fermentaire, mais encore par leur pouvoir pathogénique, comme cela a lieu, par exemple, pour

les germes suivants : *S. paratyphi C*, *S. cholerae suis* et *S. typhi suis*. Nous ne pouvons insister ici sur ces intéressantes questions.

* * *

Envisageons maintenant le rôle que sont susceptibles de jouer les antigènes flagellaires, dans les phénomènes de virulence et de pouvoir vaccinant des bactéries. Nous serons bref sur cette question, dont nous avons parlé déjà à propos des antigènes somatiques. Arkwright [118], confirmé depuis par divers auteurs, a montré que chez les *Salmonella*, la présence ou l'absence d'antigène H n'a pas de répercussion sensible sur la virulence des germes, qui ne dépend que de la présence ou de l'absence de l'antigène O. Felix et Olitzki, en ce qui concerne le pouvoir bactériolytique spécifique des sérumns antibactériens, et Braun et Nodake, en ce qui regarde le pouvoir bactériotropique des mêmes sérumns (sensibilisation des germes à la phagocytose), sont tombés d'accord pour n'attribuer aucune activité appréciable à l'anticorps H dans ces phénomènes [119]. De même, d'après Arkwright, bientôt suivi par Schütze, puis par Greenwood, Topley et Wilson et par d'autres auteurs, l'antigène H ne joue aucun rôle essentiel dans le pouvoir vaccinant des *Salmonella* [120]. Pour beaucoup de germes, il apparaît ainsi comme étant hors de doute que l'antigène H n'intervient pas de façon sensible dans les phénomènes de virulence et de pouvoir vaccinant. Il ne semble pourtant pas en être toujours de la sorte, comme l'ont montré certaines études récentes sur un anaérobiose de la gangrène gazeuse, le vibrion septique (*Cl. septique*).

Il s'agit d'un germe mobile, qui porte, d'après Felix et Robertson [121], un antigène flagellaire thermolabile, en adjonction à son antigène O. De plus, ce germe est un actif producteur d'exotoxine. Comme Robertson et Felix et comme Henderson l'ont montré [122], on peut protéger l'animal contre l'inoculation de spores de *Cl. septique* (additionnées de chlorure de calcium) en mettant en œuvre soit un sérum purement antitoxique, soit un sérum purement antibactérien ne renfermant que l'anticorps O. Dans le premier cas, l'antitoxine neutralise la toxine au fur et à mesure de sa production et en

supprime, par là-même, non seulement les effets généraux sur l'organisme, mais encore l'effet nécrosant local, ce qui empêche l'extension progressive du foyer de gangrène, à basse tension d'oxygène, offert à la pullulation des bactéries anaérobies. Dans le second cas, l'anticorps O vient se fixer sur la bactérie et la rendre sensible aux moyens de défense dont dispose l'organisme, ce qui aboutit à une inhibition de la multiplication bactérienne et par conséquent à un freinage de la production de toxine. Mais, chose curieuse, comme l'a montré récemment Henderson [123], un sérum purement antibactérien et ne renfermant que l'anticorps H est doué, lui aussi, d'un pouvoir protecteur très net. Voici l'explication que l'auteur donne du fait : l'anticorps H, en immobilisant les bactéries (21), entrave l'envahissement par ces bactéries de la zone de nécrose et freine ainsi la production de l'exotoxine. Les choses ne peuvent se passer de la même façon, en ce qui concerne les bactéries mobiles aérobies, comme les *Salmonella*. En effet, celles-ci, charriées par le sang et par la lymphé, sont capables d'aller proliférer dans des tissus dépourvus de toute nécrose (où la tension d'oxygène est normale) et cela indépendamment de toute intégrité fonctionnelle de l'appareil flagellaire. On s'explique ainsi que l'anticorps H correspondant à ces germes soit dépourvu de tout pouvoir protecteur vraiment efficace. Notons bien, pour clore cette question, qu'on ne saurait faire de la présence des flagelles (et par conséquent de l'antigène H) chez les anaérobies, une condition nécessaire pour la virulence de ces germes, comme le montre bien l'exemple de *Cl. welchii* (*B. perfringens*) lequel, bien que toujours dépourvu de cils, n'en est pas moins un redoutable agent de la gangrène gazeuse.

(21) Lorsque des bactéries flagellées vivantes sont mises, *in vitro*, en contact avec l'anticorps H correspondant, elles s'immobilisent presque aussitôt, puis s'agglutinent bientôt en gros flocons, dans lesquels les bactéries restent espacées entre elles, la cohérence ne semblant s'établir que par les flagelles. Au contraire, sous l'action de l'anticorps O, les bactéries ne s'immobilisent pas, mais s'agglutinent lentement en petits granules dans lesquels la cohérence étroite des bactéries s'établit par les corps cellulaires : ces petits granules restent mobiles, ce qui montre bien que l'anticorps O n'atteint en aucune façon l'intégrité des flagelles (Arkwright [124]).

*
* *

Arrivé au terme de ce Rapport, nous pouvons souligner le rôle important qu'a joué, jusqu'à maintenant, la collaboration entre l'Immunologie classique et la Chimie, dans le développement de nos connaissances sur les antigènes bactériens. Il y a tout lieu de penser que cette collaboration, devenant chaque jour plus intime, permettra de solutionner, dans un avenir prochain, les nombreux problèmes non encore résolus que pose actuellement l'étude des antigènes somatiques et flagellaires des bactéries.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BORDET (J.). *Traité de l'Immunité dans les Maladies infectieuses*, 1 vol., 1920 et *Immunité, Antigènes, Anticorps*, vol XII du *Traité de Physiologie* de Roger et Binet ; WELLS (H. G.). *The Chemical Aspects of Immunity*, 1 vol., 1929 ; SACHS (H.). *Antigens und Antikörper*, vol. XIII de *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, 1929 ; Divers Auteurs. *Immunity*, vol. VI de *A System of Bacteriology* (Med Res. Council), 1931 ; ZINSSER (H.). *Resistance to Infectious Diseases*, 1 vol., 1931 ; TOPLEY (W. W. C.). *An Outline of Immunity*, 1 vol., 1933 ; SCHMIDT (H.). *Fortschritte der Serologie*, 1 vol., 1933 ; SHERWOOD (N. P.). *Immunology*, 1 vol., 1935 ; DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et KOSOVITCH (N.). *Antigènes, Hétéro-antigènes et Haptènes*, 1 vol., 1937.
- [2] SMITH (T.) et REAGH (A. L.). *Journ. med. Res.*, **10**, 1903, p. 89 ; BEYER (H. G.) et REAGH (A. L.). *Journ. med. Res.*, **12**, 1904, p. 313.
- [3] WEIL (E.) et FELIX (A.). *Wien. klin. Woch.*, **30**, 1917, p. 1509.
- [4] ARKWRIGHT (J. A.). *Journ. Path. Bact.*, **24**, 1921, p. 36.
- [5] WHITE (P. B.). *Spec. Report n° 103 (Med. Res. Council)*, 1926.
- [6] SCHÜTZE (H.). *Journ. Hyg.*, **20**, 1921, p. 330.
- [7] DOCHEZ (A. R.) et GILLESPIE (L. P.). *Journ. Amer. Med. Assoc.*, **61**, 1913, p. 727.
- [8] COOPER (G.), ROSENSTEIN (C.), WALTER (A.) et PEIZER (L.). *Journ. exp. Med.*, **55**, 1932, p. 531.
- [9] WHITE (P. B.). *Spec. Report n° 103 (Med. Res. Council)* 1926 et *A System of Bacteriology in Relation to Medicine* (Med. Res. Council), vol. IV, 1929, article sur les *Salmonella* (Il s'agit de deux Revues générales avec bibliographie).
- [10] KAUFFMANN (F.). *Ergeb. Hyg. Bakt. Immunit. exp. Ther.*, **15**, 1934, p. 219 (Revue générale avec bibliographie).
- [11] SALMONELLA Subcommittee. *Journ. Hyg.*, **34**, 1934, p. 333.

- [12] KAUFFMANN (F.). *Zeit Hyg. Infekt.*, **420**, 1937, p. 177.
- [13] KAUFFMANN (F.). *Zeit Hyg. Infekt.*, **416**, 1934, p. 368 ; CHRISTENSEN (A.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **420**, 1937, p. 121.
- [14] FURTH (J.) et LANDSTEINER (K.). *Journ. exp. Med.*, **49**, 1929, p. 727 ; KAUFFMANN (F.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **418**, 1936, p. 318.
- [15] DE KRUIF (P. H.). *Journ. exp. Med.*, **33**, 1921, p. 773 ; GRIFFITH (F.). *Ministry of Health Report n° 18*, 1923 ; TOPLEY (W. W. C.) et AYRTON (J.). *Journ. Hyg.*, **23**, 1924, p. 198.
- [16] ARKWRIGHT (J. A.). *Journ. Path.*, **Bact.**, **30**, 1927, p. 345.
- [17] SCHÜTZE (H.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **11**, 1930, p. 34 ; GREENWOOD (M.), TOPLEY (W. W. C.) et WILSON (J.). *Journ. Hyg.*, **31**, 1931, p. 257 et p. 484 ; GREENWOOD (M.), HILL (A. B.), TOPLEY (W. W. C.) et WILSON (J.). *Spec. Report n° 299. (Med. Res. Council)*, 1936.
- [18] WEIL (E.) et FELIX (A.). *Zeit. Immunit. exp. Ther.*, **29**, 1920, p. 24 ; WEIL (E.). *Zeit. Immunit. exp. Ther.*, **31**, 1921, p. 50 ; FELIX (A.) et OLITZKI (L.). *Journ. Immunol.*, **11**, 1926, p. 31 ; BRAUN (H.) et NODAKE (R.). *Zentralbl. Bakt. Parasit. Infekt. (Orig.)*, **92**, 1924, p. 429.
- [19] JONES (F. S.). *Journ. exp. Med.*, **46**, 1927, p. 303, et **48**, 1928, p. 183 ; MUDD (S.), LUCKE (B.), MC CUTCHEON (M.) et STRUMIA (M.). *Journ. exp. Med.*, **52**, 1930, p. 313.
- [20] POCHON (J.). *Rev. Immunol.*, **3**, 1937, p. 136.
- [21] DOCHEZ (A. R.) et AVERY (O. T.). *Journ. exp. Med.*, **26**, 1917, p. 477
- [22] HEIDELBERGER (M.) et AVERY (O. T.). *Journ. exp. Med.*, **38**, 1923, p. 73 ; AVERY (O. T.) et HEIDELBERGER (M.). *Journ. exp. Med.*, **38**, 1923, p. 81.
- [23] HEIDELBERGER (M.), Avery et leurs Coll. : Nombreux mémoires depuis 1923 dans *Journ. exp. Med.* et *Journ. biol. Chem.* ; Revues générales dues à la plume de HEIDELBERGER : *Physiol. Rev.*, **7**, 1927, p. 107 ; *Annual Rev. Biochem.* (article *Immunochemistry*), **1**, 1932, p. 665 ; **2**, 1933, p. 503 ; **4**, 1935, p. 569 ; *Textbook of Biochemistry*, de HARROW et SCHERWIN (article *Immunochemistry*), 1935.
- [24] GRIFFITH (F.). *Journ. Hyg.*, **27**, 1928, p. 113.
- [25] DAWSON (M. H.) et SIA (R. H. P.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931, p. 681 ; SIA (R. H. P.) et DAWSON (M. H.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931, p. 701 ; ALLOWAY (J. L.). *Journ. exp. Med.*, **55**, 1932, p. 91, et **57**, 1933, p. 265.
- [26] ZINSSER (H.) et PARKER (I.). *Journ. exp. Med.*, **37**, 1923, p. 275.
- [27] MIKULASZEK (E.). *Ergeb. Bakt. Immunit. exp. Ther.*, **47**, 1934, p. 415.
- [28] TOPLEY (W. W. C.) et WILSON (G. S.). *The Principles of Bacteriology and Immunity*, 1 vol., 1936.
- [29] FURTH (J.) et LANDSTEINER (K.). *Journ. exp. Med.*, **47**, 1928, p. 171, et **49**, 1929, p. 727.
- [30] WITHE (P. B.). *Journ. Path. Bact.*, **32**, 1929, p. 85 ; **35**, 1932, p. 77 ; **36**, 1933, p. 65.
- [31] GRIFFITH (F.). *Ministry of Health Report n° 18*, 1923.

- [32] DUBOS (R.) et Avery (O. T.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931, p. 51.
Avery (O. T.) et DUBOS (R.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931, p. 73.
- [33] Avery (O. T.) et MORGAN (H. J.). *Journ. exp. Med.*, **42**, 1925, p. 347;
Avery (O. T.) et NEILL (J. M.). *Journ. exp. Med.*, **42**, 1925, p. 355.
- [34] HEIDELBERGER (M.), Avery (O. T.) et GOEBEL (W.). *Journ. exp. Med.*, **42**, 1925, p. 701.
- [35] SUGG (J. Y.) et NEILL (J. M.). *Journ. exp. Med.*, **49**, 1929, p. 183,
et **53**, 1931, p. 527 ; SUGG (J. Y.), RICHARDSON (L. V.) et NEILL
(J. M.). *Journ. exp. Med.*, **50**, 1929, p. 579.
- [36] YOSHIOKA (M.). *Zeit. Hyg. infekt.*, **97**, 1923, p. 386 ; TILLETT (W. S.).
Journ. exp. Med., **46**, 1927, p. 343, et **48**, 1928, p. 791.
- [37] DAY (H. B.). *Journ. Path. Bact.*, **36**, 1933, p. 77, et **38**, 1934,
p. 171 ; HARLEY (D.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **16**, 1935, p. 14 ;
FELTON (L. D.). *Journ. Bact.*, **33**, 1937, p. 335 ; DUBOS (R. J.).
Journ. exp. Med., **67**, 1938, p. 799.
- [38] TILLETT (W. S.), GOEBEL (W. F.) et Avery (O. T.). *Journ. exp. Med.*,
52, 1930, p. 895.
- [39] BAILEY (G. H.) et SHORB (M. S.). *Amer. Journ. Hyg.*, **43**, 1931,
p. 831, et **47**, 1933, p. 329 et 358.
- [40] ENDERS (J. F.), WU, CHAO-JEN et SHAFFER (M. F.). *Journ. exp. Med.*,
64, 1936, p. 425 ; POWELL (H. M.), JAMIESON (W. A.), BAILEY
(G. H.) et HYDE (R.). *Amer. Journ. Hyg.*, **47**, 1933, p. 102,
FINLAND (M.), RUEGSEGGER (J. M.) et FELTON (L. D.). *Journ. Amer. Med. Assoc.*, **105**, 1935, p. 1180.
- [41] DOWNIE (A. W.). *Journ. Hyg.*, **38**, 1938, p. 292.
- [42] Avery (O. T.) et MORGAN (H. J.). *Journ. exp. Med.*, **42**, 1925,
p. 347 ; Avery (O. T.) et NEILL (J. M.). *Journ. exp. Med.*, **42**,
1925, p. 355.
- [43] Avery (O. T.) et HEIDELBERGER (M.). *Journ. exp. Med.*, **42**, 1925,
p. 367.
- [44] LANDSTEINER (K.). *The Specificity of serological Reactions*, 1 vol.,
1936 ; MARRACK (J. R.). *The Chemistry of Antigens and Antibodies*, 1 vol., 1938 (*Spec. Report n° 230, Med. Res. Council*).
- [45] GOEBEL (W.) et Avery (O. T.). *Journ. exp. Med.*, **50**, 1929, p. 521.
- [46] GOEBEL (W.) et Avery (O. T.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931, p. 431 ;
Avery (O. T.) et GOEBEL (W.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931,
p. 437.
- [47] PERLZWEIG (W. A.) et STEFFEN (G. I.). *Journ. exp. Med.*, **38**, 1923,
p. 163 ; PERLZWEIG (W. A.) et KEEFER (C. S.). *Journ. exp. Med.*,
42, 1925, p. 747 ; SCHIEMANN (O.) et CASPER (W.). *Zeit. Hyg. Infekt.*,
108, 1927, p. 220 ; SCHIEMANN (O.). *Zeit. Hyg. Infekt.*,
110, 1929, p. 567 ; ENDERS (J. F.). *Journ. exp. Med.*, **52**, 1930,
p. 235 ; WADSWORTH (A.) et BROWN (R.). *Journ. Immunol.*, **21**,
1931, p. 245.
- [48] Avery (O. T.) et GOEBEL (W. F.). *Journ. exp. Med.*, **58**, 1933,
p. 731 ; PAPPENHEIMER (A. M.) et ENDERS (J. F.). *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **31**, 1933, p. 37 ; ENDERS (J. F.) et Wu (C. J.). *Journ. biol. Chem.*, **60**, 1934, p. 127.
- [49] FRANCIS (T.) et TILLETT (W. S.). *Journ. exp. Med.*, **52**, 1930, p. 573 ;
FINLAND (M.) et SUTLIFF (W. D.). *Journ. exp. Med.*, **54**, 1931,
p. 637 et 653, et **55**, 1932, p. 853

- [50] FRANCIS (T.). *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **31**, 1933, p. 493.
- [51] HORSFALL (F. L.) et GOODNER (K.). *Journ. Immunol.*, **31**, 1936, p. 135 ; DOWNIE (A. W.). *Journ. Path. Bact.*, **45**, 1937, p. 131 et 149.
- [52] DUBOS (R. J.). *Science*, **85**, 1937, p. 549 ; *Journ. exp. Med.*, **66**, 1937, p. 113 ; DUBOS (R. J.) et MACLEOD (C. M.). *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **36**, 1937, p. 696 ; *Journ. exp. Med.*, **67**, 1938, p. 791.
- [53] DOWNIE (A. W.). *Journ. Hyg.*, **38**, 1938, p. 279 ; FELTON (L. D.) et KAUFFMANN (G.). *Bulletin Johns Hopkins Hosp.*, **62**, 1938, p. 430.
- [54] ZOZAYA (J.). *Journ. exp. Med.*, **55**, 1932, p. 325 ; ZOZAYA (J.) et CLARK (J.). *Journ. exp. Med.*, **57**, 1933, p. 21.
- [55] SHERMAN (J. M.). *Bact. Rev.*, **1**, 1937, p. 1.
- [56] GRIFFITH (F.). *Journ. Hyg.*, **35**, 1935, p. 23.
- [57] LANCEFIELD (R. C.). *Journ. exp. Med.*, **47**, 1928, p. 91, 469, 481, 843 et 857 ; **57**, 1933, p. 571 ; **59**, 1934, p. 441.
- [58] STAMP (T. C.) et HENDRY (E. B.). *Lancet*, **232**, 1937, p. 257.
- [59] MUDD (S.), CZARNECKY (E. J.), LACKEMAN (D.) et PETTIT (H.). *Journ. Immun.*, **34**, 1938, p. 117 ; CZARNECKY (E. J.), MUDD (S.), PETTIT (H.) et LACKEMAN (D.). *Journ. Immunol.*, **34**, 1938, p. 155.
- [60] SEVAG (M. G.). *Science*, **87**, 1938, p. 304.
- [61] IVANOVICS (G.) et BRUCKNER (V.). *Zeit. Immunit. exp. Ther.*, **90**, 1937, p. 304 ; IVANOVICS (G.). *Zentralbl. Bakt. Parasit. Infekt. (Orig.)*, **138**, 1937, p. 211.
- [62] WELLS (H. G.) et LONG (E. R.). *The Chemistry of Tuberculosis*, 1 vol., 1932 ; MACHEBOËUF (M. A.) et DIERYCK (J.). *Rapport sur le problème immunochimique des bacilles acido-résistants et en particulier des bacilles tuberculeux. Le VI^e Congrès de Chimie biologique* (Lyon 1937), p. 261.
- [63] HEIDELBERGER (M.) et MENZEL (A. E. O.). *Journ. biol. Chem.*, **118**, 1937, p. 79.
- [64] SCHLOSSMANN (K.). *Acta Comment. Universit. Tartuensis* (Tartu-Dorpat), n° 7, 1934, p. 1 (Analysé dans *Ber. Ges. Physiol.*, **87**, 1935, p. 189) ; IONESCO-MIHAIESTI (C.), DAMBOVICEANU (A.) et LEONIDA-IOAN (C.). *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 973 et 976.
- [65] ANDERSON (R. J.) et ses collaborateurs : nombreux mémoires dans *Journ. biol. Chem.* et une revue d'ensemble : *Physiol. Rev.*, **12**, 1932, p. 166 ; SABIN (F.). *Physiol. Rev.*, **12**, 1932, p. 141. Voir également BLOCH (K.). *Zeit. physiol. Chem.*, **244**, 1936, p. 1, et plusieurs mémoires récents de MACHEBOËUF (M.) et ses collaborateurs dans : *Ann. Inst. Pasteur* et dans *Bull. Soc. Chim. Biol.*
- [66] MACHEBOËUF (M. A.) et DIERYCK (J.). *Rapport sur le problème immunochimique des bacilles acido-résistants et en particulier des bacilles tuberculeux. Le VI^e Congrès de Chimie Biologique* (Lyon 1937), p. 261.
- [67] BOIVIN (A.), MESROBEANU (I.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **114**, 1933, p. 307 ; RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113.
- [68] CIUCA (M.), MESROBEANU (L.), BADENSKI (A.) et MUNTEANU (G.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 1414.
- [69] PIROSKY (I.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 98 et 966.

- [70] LISBONNE (M.) et MONNIER (P.). *C. R. Soc. de Biol.*, **123**, 1936, p. 1114 ; LISBONNE (M.), ROMAN (G.) et RENOUX (G.). *C. R. Acad. des Sciences*, **206**, 1938, p. 954 ; HUDDLESON (I. F.) et PENNELL (R. B.). *Comm. Second Congrès intern. Microbiol.*, Londres, 1936, *Volume du Congrès*, p. 428. PENNELL (R. B.) et HUDDLESON (I. F.). *Tech. Bull. n° 156, Agric. exp. Station Michigan State College*, 1937.
- [71] CHEVÉ (J.). *C. R. Acad. des Sciences*, **206**, 1938, p. 1204.
- [72] SCHLOSSMANN (K.). *Acta Comment. Universit. Tartuensis* (Tartu-Dorpat), n° 7, 1934, p. 1 (Analysé dans *Ber. Ges. Physiol.*, **87**, 1935, p. 189). IONESCO-MIHAIESTI (C.), DAMBOVIEANU (A.) et LEONIDA-IOAN (C.). *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1937, p. 973 et 976.
- [73] HENDERSON (D. W.) et MORGAN (W. T. J.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **19**, 1938, p. 82.
- [74] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 1176.
- [75] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *Rev. Immunol.*, **2**, 1936, p. 113 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 652.
- [76] BOIVIN (A.), MESROBEANU (I.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **114**, 1933, p. 307 ; BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *Rev. Immunol.*, **1**, 1935, p. 553 ; RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113 ; MORGAN (W. T. J.). *Journ. Soc. Chem. Ind.*, **56**, 1937, p. 446 ; *Biochem. Journ.*, **31**, 1937, p. 2003.
- [77] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Acad. des Sciences*, **198**, 1934, p. 2211 ; *Rev. Immunol.*, **1**, 1935, p. 553 ; *Commun. VI^e Congrès Chim. Biol. (Lyon 1937)*, *Volume du Congrès*, p. 401.
- [78] BOIVIN (A.), MESROBEANU (I.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 307 ; BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **118**, 1935, p. 612 ; *Rev. Immunol.*, **3**, 1937, p. 319 ; RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113.
- [79] WHITE (P. B.). *Journ. Path. Bact.*, **32**, 1929, p. 85.
- [80] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *Rev. Immunol.*, **4**, 1938, p. 197 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 446.
- [81] RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113 ; BOIVIN (A.), MESROBEANU (L.) et MESROBEANU (I.). *C. R. Acad. des Sciences*, **198**, 1934, p. 2124.
- [82] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 755 ; **128**, 1938, p. 358 ; *Rev. Immunol.*, **4**, 1938, p. 197.
- [83] LISBONNE (M.), ROMAN (G.) et RENOUX (G.). *C. R. Acad. des Sciences*, **206**, 1938, p. 954 ; LISBONNE (M.). *Bull. Ac. Méd.*, **119**, 1938, p. 518 ; ROMAN (G.). *La vaccination effective du cobaye contre l'infection brucellique*, Thèse de Médecine, Montpellier 1938.
- [84] PIROSKY (I.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 966.
- [85] BOIVIN (A.), MESROBEANU (I.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **114**, 1933, p. 307 ; RAISTRICK (H.) et TOPLEY (W. W. C.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113 ; MARTIN (A. R.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 137.
- [86] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **118**, 1935, p. 614 ; *Rev. Immunol.*, **2**, 1936, p. 113.

- [87] DELAFIELD (M. E.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 130.
- [88] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 1092 ; **125**, 1937, p. 273 et 796 ; **127**, 1938, p. 752 ; *Rev. Immunol.*, **4**, 1938, p. 40.
- [89] EATON (M. D.). *Journ. Bact.*, **31**, 1936, p. 347 et p. 367 ; **34**, 1937, p. 139 ; *Journ. Immunol.*, **33**, 1937, p. 419 ; PAPPENHEIMER (A. M.) et JOHNSON (S. J.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **18**, 1937, p. 239 ; PAPPENHEIMER (A. M.). *Journ. biol. Chem.*, **120**, 1937, p. 543 ; BOIVIN (A.). *C. R. Acad. des Sciences*, **203**, 1936, p. 284 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 218.
- [90] GRASSET et coll. Nombreuses publications, spécialement dans les *C. R. Soc. de Biol.*. Citons : GRASSET (E.) et GORY (M.). *C. R. Soc. de Biol.*, **96**, 1927, p. 180 ; GRASSET (E.) et LEWIN (W.). *C. R. Soc. de Biol.*, **125**, 1937, p. 979.
- [91] REILLY (J.), RIVALIER (E.), LAUNAY (C.) et STEFANESCO (V.). *Ann. Méd.*, **33**, 1933, p. 388 et 433.
- [92] PFEIFFER (R.) et LUBINSKI (H.). *Zentralbl. Bakt. (Orig.)*, **102**, 1927, p. 459.
- [93] BOIVIN (A.). *C. R. Acad. des Sciences*, **203**, 1936, p. 284 ; BOIVIN (A.) et IZARD (Y.). *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 25 ; BOIVIN (A.), MESROBEANU (L.) et IZARD (Y.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 651.
- [94] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Acad. des Sciences*, **204**, 1937, p. 302 et 1759 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 439, 442 et 1078 ; **125**, 1937, p. 796 ; **126**, 1937, p. 222, 323 et 652 ; **128**, 1938, p. 446.
- [95] HAAS (R.). *Zeit. Immunitt. exp. Ther.*, **91**, 1937, p. 254 ; **92**, 1938, p. 355 ; MORGAN (W. T. J.). *Biochem. Journ.*, **31**, 1937, p. 2003 ; CHECCACCI (L.). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperm.*, **13**, 1938, p. 76 ; ISTRATI (G.). *C. R. Soc. de Biol.*, **127**, 1938, p. 1336.
- [96] GRINNELL (F. B.). *Journ. exp. Med.*, **56**, 1932, p. 907.
- [97] FELIX (A.) et PITTE (R. M.). *Journ. Path. Bact.*, **38**, 1934, p. 409 ; *Lancet*, **227**, 1934, p. 186 ; *Journ. Hyg.*, **35**, 1935, p. 428 ; FELIX (A.) et BHATNAGAR (S. S.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **16**, 1935, p. 422 ; BHATNAGAR (S. S.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **16**, 1935, p. 375.
- [98] KAUFFMANN (F.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **116**, 1935, p. 617 ; **117**, 1936, p. 778 ; **118**, 1936, p. 318 ; ORSKOV (J.) et KAUFFMANN (F.). *Journ. Hyg.*, **36**, 1936, p. 514.
- [99] BOIVIN (A.), MESROBEANU (L.), MESROBEANU (L.) et NESTORESCU (B.). *C. R. Soc. de Biol.*, **115**, 1934, p. 306.
- [100] TOPLEY (W. W. C.), RAISTRICK (H.), WILSON (J.), STACEY (M.), CHALLINOR (S. W.) et CLARK (R. O. J.). *Lancet*, **232**, 1937, p. 252.
- [101] GIOVANARDI (A.). *Boll. Sez Ital. Soc. Intern. Microbiol.*, **9**, 1937, p. 130.
- [102] COMBIESCO (D.), COMBIESCO (C.) et SORU (E.). *C. R. Soc. de Biol.*, **126**, 1937, p. 1081.
- [103] HENDERSON (D. W.) et MORGAN (W. T. J.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **19**, 1938, p. 82.
- [104] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Acad. des Sciences*, **206**, 1938, p. 1416 ; *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 5 et 9.

- [105] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 837.
- [106] BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 835.
- [107] KAUFFMANN (F.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **116**, 1935, p. 617 ; **117**, 1936, p. 778.
- [108] ROUCHDI (M.). *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 1022 et 1024.
- [109] PIROSKY (I.). *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 346 et 347.
- [110] ORCUTT (M. L.). *Journ. exp. Med.*, **40**, 1924, p. 43.
- [111] TULASNE (R.). *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 580 et 652.
- [112] WHITE (P. B.). *Spec. Report n° 103 (Med. Res. Council)*, 1926 ; *A System of Bacteriology in relation to Medicine (Med. Res. Council)*, vol. IV, 1929, article sur les Salmonella (Il s'agit de deux Revues générales avec bibliographie).
- [113] KAUFFMANN (F.). *Ergeb. Hyg. Bakt. Immunit. exp. Ther.*, **15**, 1934, p. 219 (Revue générale avec bibliographie) ; *Zeit. Hyg. Infekt.*, **120**, 1937, p. 177.
- [114] SALMONELLA SUBCOMMITTEE. *Journ. Hyg.*, **34**, 1934, p. 233.
- [115] ANDREWES (F. W.). *Journ. Path. Bact.*, **25**, 1922, p. 505.
- [116] KAUFFMANN (F.) et MITSUI (C.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **111**, 1930, p. 740.
- [117] KAUFFMANN (F.). *Zeit. Hyg. Infekt.*, **119**, 1936, p. 103.
- [118] ARKWRIGHT (J. A.). *Journ. Path. Bact.*, **30**, 1927, p. 345.
- [119] FELIX (A.) et OLITZKI (L.). *Journ. Immunol.*, **11**, 1926, p. 31 ; BRAUN (H.) et NODAKE (R.). *Zentralbl. Bakt. Parasit Infekt. (Orig.)*, **92**, 1924, p. 429.
- [120] ARKWRIGHT (J. A.). *Journ. Path. Bact.*, **30**, 1927, p. 345 ; SCHÜTZE (H.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **11**, 1930, p. 34 ; GREENWOOD (M.), TOPLEY (W. W. C.) et WILSON (J.). *Journ. Hyg.*, **31**, 1931, p. 257 et 484.
- [121] FELIX (A.) et ROBERTSON (M.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **9**, 1928, p. 6.
- [122] ROBERTSON (M.) et FELIX (A.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **11**, 1930, p. 14 ; HENDERSON (D. W.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **15**, 1934, p. 166 ; **16**, 1935, p. 393.
- [123] HENDERSON (D. W.). *Brit. Journ. exp. Path.*, **18**, 1937, p. 224.
- [124] ARKWRIGHT (J. A.). *Journ. Path. Bact.*, **30**, 1927, p. 566.

Le Gérant : G. MASSON.